

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

ABONDANCE ET DIVERSITÉ DU BACTÉRIOPLANCTON ANTARCTIQUE ET SUB-
ANTARCTIQUE : RÉPONSES À UNE AUGMENTATION COMBINÉE DES
RADIATIONS UVB ET DE LA TEMPÉRATURE EN CONDITIONS NATURELLES ET
EN CONDITIONS CONTROLÉES

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ À

L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI

comme exigence partielle

du programme de maîtrise en océanographie

PAR

BERNARD MERCIER

Directrice : Karine Lemarchand

Co-directeur : Gustavo Ferreyra

Décembre 2008

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier ma directrice le Dre Karine Lemarchand pour sa grande disponibilité et ses judicieux conseils ainsi que mon co-directeur le Dr Gustavo Ferreyra. Je remercie également le Dr Émilien Pelletier et le Dre Connie Lovejoy d'avoir accepté d'être membre de mon jury. Je remercie Sébastien Roy et Damian Lopez pour avoir récolté les échantillons en Antarctique ainsi que Sébastien Moreau et le Dr Claude Belzile pour leur aide en cytométrie en flux. Je tiens également à remercier le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG) pour leur soutien financier.

Je dédie ce mémoire à mon père, ma mère et mes deux sœurs ainsi qu'à mes amis Antony, Philippe et Patrick qui m'ont toujours encouragé et supporté pendant ce processus.

RÉSUMÉ

La Péninsule Antarctique (PA) est l'une des régions du monde les plus affectées par le réchauffement climatique. Elle est de plus soumise à une augmentation importante des radiations UVB (RUVB) du début jusqu'à la fin du printemps austral en raison de la déplétion d'ozone stratosphérique sous ces latitudes. L'action combinée d'une hausse de température à ces RUVB demeure méconnue tant au niveau des producteurs primaires que des autres composantes du réseau trophique austral. Celle-ci pourrait avoir une influence majeure sur la structure et la productivité du réseau trophique planctonique en favorisant la croissance de cellules de petites tailles et, en conséquence, affecter l'efficacité de pompage du CO₂ atmosphérique par la pompe biologique. C'est dans ce contexte que le projet d'occasion spéciale de recherche du CRSNG intitulé: "*The combined effects of ultraviolet radiation and climate warming on the biological pump: A temporal and latitudinal study*" a été mis sur pied en 2006. Le présent travail cible plus spécifiquement les effets d'une hausse des RUVB et de la température sur la diversité et l'abondance du bactérioplancton antarctique et sub-antarctique en conditions naturelles et en conditions contrôlées.

Des échantillons d'eau ont été récoltés mensuellement lors de l'automne, de l'hiver et du printemps austral à l'ouest de la PA afin de caractériser la variation saisonnière des communautés bactériennes hétérotrophes. L'abondance totale ainsi que le pourcentage de cellules ayant un haut contenu en acide nucléique (%HNA) ont été déterminés par cytométrie en flux, tandis que la diversité des communautés bactériennes a été estimée par PCR-DGGE sur la base de la séquence du gène d'ADNr 16S. Les résultats montrent une étonnante stabilité des communautés bactériennes tout au long de la période d'étude. L'abondance phytoplanctonique et la température ont été identifiées comme étant les deux variables expliquant le plus les variations d'abondance bactérienne durant cette étude. L'abondance bactérienne variait moins dans la couche aphotique par rapport à la couche photique, cette dernière étant plus affectée par les variations saisonnières de lumière et de température. Le %HNA a varié entre 53 et 74% avec une augmentation en hiver possiblement reliée à une diminution de la prédation. Les empreintes génétiques des communautés ont mis en évidence des unités taxonomiques opérationnelles (UTO) dominantes différentes tout au long de la période d'étude, soit une évolution différente de la diversité bactérienne, dans la couche photique et la couche aphotique, respectivement. Afin de discerner les effets individuels et combinés d'une hausse des RUVB et de la température sur l'abondance et la diversité du bactérioplancton sub-antarctique *in vitro*, une analyse en conditions contrôlées de température et lumière a été réalisée à Ushuaia (Argentine). Aucun effet significatif des RUVB n'a pu être mis en évidence sur l'abondance bactérienne et le %HNA au cours des 10 jours d'analyse. La hausse de température a, quant à elle, eu un effet négatif sur l'abondance bactérienne dans les derniers jours de l'expérience. Finalement, ni la hausse de la température ni celle des RUVB n'ont eu d'effet significatif sur la diversité bactérienne. Ces résultats démontrent qu'une augmentation combinée de la température et des RUVB sur une courte période de temps ne favorisent pas la dominance des bactéries hétérotrophes, quand appliquées sur des populations pré-adaptées naturellement à des variations des RUVB et à des fluctuations de la température, comme c'est le cas des bactéries sub-antarctiques.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	ii
RÉSUMÉ	iii
TABLE DES MATIÈRES	iv
LISTE DES TABLEAUX	vi
LISTE DES FIGURES	viii
LISTE DES ANNEXES	xi
1. INTRODUCTION	1
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	9
2.1 Site d'étude et stratégie d'échantillonnage	9
2.1.1 Analyse en milieu naturel	9
2.1.2 Analyses en conditions contrôlées (mésocosmes, été austral 2008).....	12
2.2 Variables environnementales mesurées	17
2.2.1 Variables de référence	17
2.2.2 Variables bactériologiques.....	18
2.3 Analyses statistiques	23
3. RÉSULTATS.....	25
3.1 Suivi saisonnier des communautés bactériennes à l'ouest de la PA.	25
3.1.1 Abondance totale et %HNA	25

3.1.2 Diversité bactérienne	38
3.2. Suivi des communautés bactériennes soumises aux différents traitements en conditions contrôlées (mésocosmes).....	47
3.2.1. Abondance bactériennes et %HNA	47
3.2.2 Diversité bactérienne	54
4.DISCUSSION	61
4.1 Évolution de l'abondance et de la diversité du bactérioplancton dans les eaux de la PA au cours de l'automne, de l'hiver et du printemps austral 2008.	61
4.2 Variations temporelles des communautés bactériennes dans les mésocosmes soumis aux différents traitements de RUVB et de température.	76
4.2.1 Effets individuels et combinés d'une hausse des RUVB et de la température sur l'abondance bactérienne et le %HNA.	76
4.2.2 Effets individuels et combinés d'une hausse des RUVB et de la température sur la diversité bactérienne.....	82
5. CONCLUSION.....	84
6. RÉFÉRENCES	87
7. ANNEXES.....	98

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Valeurs moyennes et écarts-types des différents paramètres environnementaux pour l'automne (n=11), l'hiver (n=14) et le printemps austral (n=35) pour l'ensemble de la colonne d'eau échantillonnée.....	26
Tableau 2 : Coefficients de corrélations entre l'abondance bactérienne, le %HNA et a) les variables biologiques et b) les variables physico-chimiques pour l'ensemble de la colonne d'eau échantillonnée. Les valeurs marquées d'un * ont été obtenues par un test de corrélation de Pearson tandis que les autres ont été obtenues par un test de corrélation de Spearman. Les corrélations significatives apparaissent en caractère gras.	28
Tableau 3 : Modèles de régression linéaire multiple indiquant les coefficients de régression $B = (X'X)^{-1}X'Y$ pour expliquer a) l'abondance bactérienne et b) le %HNA.	29
Tableau 4 : Coefficients de corrélations entre le nombre de bandes mesuré dans la couche photique et dans la couche aphotique et a) les variables biologiques et b) les variables physico-chimiques. Les valeurs marquées d'un * ont été obtenues par un test de corrélation de Spearman tandis que les autres ont été obtenues par un test de corrélation de Pearson. Les corrélations significatives apparaissent en caractère gras.	42
Tableau 5: Matrice de similitude illustrant les indices de Jaccard entre les différents échantillons de a) la couche photique et de b) la couche aphotique.	45

Tableau 6 : Résultats de l'ANOVA à mesures répétées pour a) l'abondance bactérienne et b) le %HNA.	50
Tableau 7 : Coefficients de corrélations entre l'abondance bactérienne et le %HNA et les différentes variables mesurés pour a) le contrôle, b) UVB+, c) T+ et d) UVB+T+. Les valeurs marquées d'un * ont été obtenues par un test de corrélation de Spearman tandis que les autres ont été obtenues par un test de corrélation de Pearson. Les corrélations significatives apparaissent en caractère gras.	53

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Localisation de la station fixe d'échantillonnage durant l'automne, l'hiver et le printemps austral 2006, de la station Esperanza et de la ville d'Ushuaia (gracieuseté de G. Ferreyra).....	11
Figure 2 : a) Vue des mésocosmes à température et RUVB contrôlés installés à Ushuaia (Terre de Feu, Argentine) et b) répartition des mésocosmes selon leur traitement.	16
Figure 3 : Schéma conceptuel d'un mésocosme représentant la circulation générée dans les mésocosmes, les systèmes de contrôle de température et de lumière et l'emplacement du tuyau de prélèvement.	17
Figure 4 : Valeurs de chl-a, d'abondance phytoplanctonique, d'abondance bactérienne et de %HNA mesurées aux différentes profondeurs échantillonnées a) au jour 170 et b) au jour 241.	32
Figure 5 : Valeurs de chl-a, d'abondance phytoplanctonique, d'abondance bactérienne et de %HNA mesurées aux différentes profondeurs échantillonnées a) au jour 299 b) et au jour 314.	33
Figure 6 : Variation saisonnière de l'abondance bactérienne et du %HNA dans a) la couche photique et b) la couche aphotique. Les lignes verticales continues séparent les saisons.	36
Figure 7 : Empreinte de DGGE pour les 16 échantillons de la couche photique. Les jours juliens sont inscrits en haut des échantillons et un exemple de bande primaire et de bande secondaire est illustré.	39

Figure 8 : Empreinte de DGGE pour les 16 échantillons de la couche aphotique. Les jours juliens sont inscrits en haut des échantillons.	40
Figure 9 : Nombre de bandes identifiées par DGGE pour les échantillons de la couche photique et de la couche aphotique. Les lignes verticales continues séparent les saisons.	41
Figure 10 : Dendrogrammes illustrant le degré de similitude (échelle verticale) entre les échantillons selon l'indice de Jaccard pour a) la couche photique et b) la couche aphotique. Les échantillons du printemps sont soulignés d'une ligne continue, les échantillons de l'hiver sont soulignés par une ligne discontinue et les échantillons de l'automne sont soulignés d'une ligne pointillée.	46
Figure 11 : Abondance bactérienne moyenne et écart-type des réplicats pour les trois traitements et le contrôle en fonction du temps.	48
Figure 12 : %HNA moyen et écart-type des réplicats pour les trois traitements et le contrôle en fonction du temps.	49
Figure 13 : Relations entre l'abondance bactérienne et la concentration en chl-a en fonction du temps pour le contrôle et les 3 traitements.	52
Figure 14 : Empreintes DGGE obtenues pour les différents traitements pour les jours 0 et 2. Des témoins contrôles des jours 6 et 8 ont été ajoutés afin de faciliter la comparaison entre les gels.	57
Figure 15 : Empreintes DGGE pour les jours 6 et 8. Un témoin contrôle du jour 0 a été ajouté à chaque gel (T6 et T8) afin de faciliter la comparaison entre les gels.	58

Figure 16 : Nombre de bandes observées sur les empreintes de DGGE en fonction du temps pour les huit (8) mésocosmes.....	59
Figure 17 : Résultats de l'analyse multidimensionnelle (MDS) pour les échantillons analysés en DGGE. Une couleur différente a été attribuée aux échantillons selon le jour de l'expérience (T0 ; rouge, T2 ; jaune, T6 ; gris, T8 ; vert).....	60

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Données de lumière et évolution verticale des variables environnementales lors du suivi saisonnier des communautés bactériennes à l'ouest de la PA.....	98
---	-----------

Figure A1.1 : Valeurs d'irradiance de la lumière visible (PAR) et des RUV à 305, 313, 320, 340 et 380 nm mesurées à midi (heure locale) au-dessus de la surface de l'eau à l'aide d'un spectroradiomètre GUV. Les lignes continues verticales séparent les saisons, les traits rouges délimitent la période du maximum du trou dans la couche d'ozone et les traits bleu pâle sous l'axe des x représentent les points d'échantillonnage.	99
Figure A1.2 : Évolution du rapport 320/340 nm (UVB/UVA) sur la période d'étude. Les lignes continues verticales séparent les saisons et les traits rouges délimitent la période du maximum du trou dans la couche d'ozone.	100
Figure A1.3 : Pénétration des RUVB dans les 50 premiers mètres de la colonne d'eau pour les jours 170, 241, 299 et 314 (gracieuseté de S. Moreau).	100
Figure A1.4 : Pénétration des RUVA dans les 50 premiers mètres de la colonne d'eau pour les jours 170, 241, 299 et 314 (gracieuseté de S. Moreau).	101
Figure A1.5 : Pénétration des radiations du PAR dans les 50 premiers mètres de la colonne d'eau pour les jours 170, 241, 299 et 314 (gracieuseté de S. Moreau).	101

Figure A1.6 : Profils verticaux de CTD incluant la température, la salinité et la densité pour a) le jour 170 et b) le jour 241.	103
Figure A1.7 : Profils verticaux de CTD incluant la température, la salinité et la densité pour a) le jour 299 et b) le jour 314.	104
Figure A1.8 : Variation de l'indice de stratification de Simpson au cours de la période d'échantillonnage (gracieuseté de S. Moreau). Les lignes verticales continues séparent les saisons.	105

Annexe 2 : RUVB et température lors du suivi des communautés bactériennes soumises aux différents traitements en conditions contrôlées (mésocosmes).....106

Figure A2.1 : Irradiance naturelle à 320 nm mesurée sur le site des mésocosmes à l'aide du GUV en fonction des heures de la journée lors des 10 jours de l'expérience (t0, t0,5, t1, t2, t3, t4, t5, t6, t7 et t8).	107
Figure A2.2 : Irradiance moyenne à 320 nm en surface pour les trois traitements et le contrôle en fonction du temps. Ces valeurs ont été mesurées à 12h après allumage des tubes à l'aide du PUV.	108
Figure A2.3 : Coefficients d'extinctions moyens à 320 nm pour les trois traitements et le contrôle en fonction du temps (Gracieuseté de G. Ferreyra).	109

Figure A2.4 : Températures moyennes et écart-types de l'eau des huit (8) mésocosmes
durant l'expérience. Les températures ont été notées à chaque heure sur la totalité de la
période de l'expérience. 110

1. INTRODUCTION

Les organismes planctoniques présents dans les océans jouent un rôle important dans la régulation de la concentration en gaz carbonique dans l'atmosphère via la "pompe biologique à carbone" (Ducklow *et al.* 2001). Les cellules phytoplanctoniques sont en effet capables de fixer du carbone inorganique par le biais de la photosynthèse et de le transformer en matière organique qui sera pour une part transférée vers les maillons supérieurs du réseau trophique (prédation) et pour une seconde part reminéralisée après sédimentation dans le fond des océans. Le type de réseau trophique en place influence sur l'efficacité à séquestrer le gaz carbonique provenant de l'atmosphère vers le fond des océans. Un réseau trophique de type herbivore, c'est-à-dire dominé par des cellules planctoniques de grandes tailles (diatomées, krills, salpes) résulte en une plus grande exportation de gaz carbonique vers le fond comparativement à un réseau trophique de type microbien qui est dominé par des cellules de petites tailles. Les organismes planctoniques de grande taille sont plus efficaces que ceux de petites tailles pour l'exportation non seulement parce qu'ils sédimentent plus rapidement dans la colonne d'eau mais aussi du fait qu'ils entrent dans de courtes chaînes alimentaires produisant de grosses pelotes fécales (Ducklow *et al.* 2001).

Au cours des 20 dernières années, de nombreuses études se sont intéressées aux effets du réchauffement climatique sur le fonctionnement de la "pompe biologique" avec une emphase sur le phytoplancton en raison de son rôle de producteur primaire (Arrigo *et al.*

1999, Bopp *et al.* 2005, Sommer et Lengfellner 2008). Toutefois ces études n'abordent que brièvement les modifications du compartiment microbien hétérotrophe. L'étude du bactérioplancton hétérotrophe est cependant d'un grand intérêt vu son abondance élevée en milieu marin, son rôle central dans les cycles biogéochimiques, dans la respiration et puisqu'il constitue un lien fondamental dans le transfert du carbone entre les producteurs primaires et les consommateurs (Zenoff *et al.* 2006). Dépendamment de l'état trophique de l'environnement, le bactérioplancton peut contribuer de 12 à plus de 50 % de la respiration totale de la communauté (Robinson *et al.* 1999, 2002, Søndergaard *et al.* 2000). Dans les environnements eutrophes, l'abondance bactérienne peut atteindre des valeurs de l'ordre de 10^9 bactéries/litre (McManus *et al.* 2004, Gary *et al.* 2003) et il est aujourd'hui démontré que les bactéries peuvent constituer plus de 50% de la biomasse planctonique océanique (Gasol *et al.* 1997). Parmi l'ensemble des organismes vivants dans la colonne d'eau, les microorganismes planctoniques sont grandement affectés par les variations environnementales auxquelles ils peuvent répondre rapidement tant par des adaptations physiologiques que par des modifications dans la structure des communautés fonctionnelles (abondance, diversité). Le bactérioplancton présente une grande diversité métabolique, lui conférant un potentiel élevé d'adaptation à ces fluctuations environnementales (Sala *et al.* 2006). De plus, dans les écosystèmes présentant de faibles niveaux de production primaire, le réseau trophique de type microbien apparaît dominant (Hoppe *et al.* 2002). L'océan austral, entourant le continent Antarctique, est la plus grande région du monde de type HNLC (high nutrients-low chlorophyll), c'est-à-dire qui comporte une concentration élevée en nutriments, mais une faible concentration en chlorophylle a, traduisant un faible niveau

de production primaire (Christaki *et al.* 2008). Cette zone de type HNLC est conceptuellement similaire aux régions oligotrophes dominées par un réseau trophique de type microbien (Landry *et al.* 1997).

Une partie importante de l'Antarctique a été décrite comme la région du globe pour laquelle les plus importantes augmentations de température atmosphérique ont été enregistrées au cours des cinquante dernières années. Elle constitue donc une région fortement affectée par le réchauffement climatique (Ferron *et al.* 2004). Durant cette période, une augmentation de la température moyenne de la surface de 2,5 °C a été mesurée à l'ouest de la Péninsule Antarctique (PA) (Turner *et al.* 2005). Ces changements climatiques ont comme conséquence le retrait des glaciers et l'augmentation de la fonte des glaces qui contribuent à modifier la structure verticale de la colonne d'eau et ce, principalement dans les eaux côtières et peu profondes de la PA (Cook *et al.* 2005). La fonte des glaciers crée un apport important d'eau douce et de particules qui influencent, respectivement, la salinité et la luminosité dans la colonne d'eau et modifient les conditions optimales pour la production phytoplanctonique (Schloss *et al.* 2006). De plus, les réactions enzymatiques impliquées dans la photosynthèse du phytoplancton sont thermodépendantes, ainsi une augmentation de température de l'eau peut avoir des effets directs sur le métabolisme des organismes planctoniques et limiter la production de cellules phytoplanctoniques de grande taille (Cloern 1979, Schloss *et al.* 2006). À l'échelle du bactérioplancton, une augmentation de température peut avoir un effet positif sur le métabolisme des espèces thermotolérantes mais limiter le métabolismes des espèces

thermosensibles (Fdz-Polanco *et al.* 1994) et ainsi conduire à des modifications de diversité bactérienne à l'échelle de la communauté en favorisant l'émergence de populations adaptées à des températures plus élevées, et la décroissance des espèces moins bien adaptées à de telles températures (Rattray et Logan 1993).

En addition à cette augmentation de température, l'océan austral est également sujet à une augmentation de l'intensité des radiations UVB incidentes (RUVB) en raison de la diminution de l'épaisseur de la couche d'ozone stratosphérique observable durant le printemps antarctique. Ce phénomène entraîne une augmentation des RUVB ($\lambda = 280$ à 320 nm) lors du début de la période du maximum de production biologique dans les eaux de cette région (Davidson et van der Heijden 2000). Les RUVB ont des effets importants sur l'ensemble des organismes planctoniques, de l'échelle moléculaire jusqu'à l'échelle de la communauté. Ces radiations causent, entre autres, des lésions au niveau de l'ADN des organismes exposés (Blackfield et Harris 1994, Zenoff 2006) et altèrent le système photosynthétique du phytoplancton via la photo-destruction de la chlorophylle a (chl-a), pigment présent chez la plupart des organismes photosynthétiques et la diminution du niveau d'activité de certaines enzymes impliquées dans la photosynthèse (Döhler 1998). Par conséquent, une hausse des RUVB est généralement associée à une diminution de la productivité primaire en milieu marin (Karentz et Bosch 2001) au bénéfice potentiel des microorganismes hétérotrophes. Selon certains auteurs, la réponse totale de la communauté bactérienne aux RUVB serait le résultat net du bilan entre les effets négatifs directs sur les bactéries elles-mêmes (modifications de l'ADN, énergie dépensée pour les mécanismes de

réparation) et les effets positifs potentiels de la diminution de la prédation, de la photodégradation de la matière organique récalcitrante (DOM) dues aux RUVB et de l'augmentation dans la disponibilité de matière organique provenant des dommages des RUVB sur d'autres organismes (Kaiser et Herndl 1997, Gustavson et al. 2000).

Considérant les effets potentiellement importants des RUVB sur le compartiment bactérien et sur le phytoplancton, il est probable qu'une hausse de ce type de radiations entraîne des changements à l'intérieur du réseau trophique planctonique. Ceci pourrait influencer le rapport photosynthèse/respiration dans la couche photique (profondeur correspondant à 0,1 % de la lumière incidente en surface), d'où une potentielle réduction dans l'efficacité de la pompe biologique (Helbling *et al.* 1995, Davidson et Heijden 2000, Karentz et Bosch 2001). En addition aux mesures classiques d'abondance et de diversité bactérienne, une des manières d'évaluer l'état physiologique des communautés est de mesurer la proportion de cellules bactériennes à haut contenu en acide nucléique (%HNA, de l'anglais High Nucleic Acid), la communauté bactérienne marine étant constituée de deux sous-populations soient les HNA et les LNA (de l'anglais Low Nucleic Acid, cellules bactériennes à bas contenu en acide nucléique). Certains auteurs ont proposé que les LNA seraient des bactéries mortes ou inactives et que le %HNA pourrait donc être utilisé comme un indice du niveau d'activité de la communauté bactérienne (Gasol *et al.* 1999, Lebaron *et al.* 2002, Vaqué *et al.* 2001). Par contre, de récentes études ont démontré que les LNA ne sont pas métaboliquement inactives et qu'elles peuvent faire partie intégrante du réseau microbien (Jochem *et al.* 2004, Longnecker *et al.* 2005, Scharek et Latasa 2007). Le rôle

des HNA et des LNA dans la communauté microbienne est très actuel et suscite beaucoup d'interrogations. Néanmoins, le %HNA constitue un paramètre utile pour suivre l'évolution de la communauté bactérienne en relation avec une augmentation de température et une augmentation des RUVB puisqu'il témoigne de modifications dans la structure de la communauté d'un point de vue physiologique.

À notre connaissance, aucun travail ne permet à ce jour de mettre en évidence l'effet combiné de l'augmentation de température et de la hausse des RUVB sur l'ensemble des organismes planctoniques des eaux des régions de hautes latitudes, actuellement exposées à une telle combinaison de facteurs. Ces facteurs pourraient modifier non seulement la structure des communautés mais aussi leur fonction dans l'écosystème. Ce projet de maîtrise s'intègre dans le cadre d'une demande d'Occasion Spéciale de Recherche financée par le CRSNG, intitulée "*The combined effects of ultraviolet radiation and climate warming on the biological pump: A temporal and latitudinal study*", projet international impliquant l'Institut des Sciences de la Mer de Rimouski, l'Université de Victoria et l'Institut Antarctique Argentin. Dans sa globalité, ce projet cible les effets de la combinaison d'une hausse de température et des RUVB sur la structure des réseaux trophiques antarctiques, avec une attention particulière pour les organismes planctoniques. L'hypothèse générale de ce projet de recherche est que les changements climatiques actuels favoriseront la mise en place de réseaux trophiques de type microbiens dans les milieux affectés par la hausse combinée de RUVB et de température. Le bactérioplancton hétérotrophe étant un compartiment majeur du réseau microbien, le but de mon projet de

maîtrise est de déterminer l'effet naturel de cette combinaison de facteurs par le biais d'une étude de terrain réalisée à l'ouest de la PA et de vérifier, par le biais d'une étude en mésocosmes, si l'augmentation des RUVB et les hausses de température prévues ont une influence différente, de façon individuelle et combinée sur la dynamique du bactérioplancton austral .

Dans un premier temps, notre étude de terrain nous a permis de déterminer l'évolution de l'abondance et de la diversité bactérienne au cours de l'automne, de l'hiver et de la transition printanière à l'ouest de la PA afin de tester les hypothèses nulles suivantes : [H₀1] la structure (abondance+diversité) des communautés bactérioplanctoniques est similaire à l'automne, à l'hiver et au printemps et [H₀2] la structure des communautés bactérioplanctoniques est similaire dans la couche photique et dans la couche aphotique.

En deuxième lieu, la réponse des communautés bactériennes sub-antarctiques aux effets combinés des RUVB et de la température a été étudiée plus en avant par le biais d'expériences en conditions contrôlées afin de tester les hypothèses nulles suivantes [H₀3], les RUVB combinées à la température n'ont pas d'effet individuel ni synergique sur l'abondance du bactérioplancton et sur le %HNA et [H₀4] les RUVB combinées à la température n'ont pas d'effet individuel ni synergique sur la diversité des communautés bactériennes.

Aucune étude jusqu'à maintenant n'a tenté de déterminer les effets combinés d'une augmentation de la température et des radiations RUVB sur la structure des communautés bactériennes antarctiques, c'est-à-dire qui sont naturellement adaptées à des températures froides et à des RUVB en constante augmentation. Il s'agit également de la première étude du bactérioplancton antarctique au cours de la totalité de la période hivernale. De plus, l'étude de la communauté bactérienne au cours du passage de l'hiver au printemps austral dans les eaux de la PA amène l'opportunité d'étudier les effets de l'augmentation de température et des RUVB sur la structure de la communauté microbienne en conditions naturelles. De plus, l'expérience en mésocosmes selon la méthodologie utilisée pour les milieux antarctiques et sub-antarctiques constitue également la première de son genre permettant la combinaison de deux facteurs contrôlés que sont les radiations UVB et la température.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Site d'étude et stratégie d'échantillonnage

2.1.1 Analyse en milieu naturel

Des échantillons d'eau ont été récoltés mensuellement à l'aide d'une bouteille Niskin de 5 L au niveau d'une station fixe ($64^{\circ} 19'S$, $62^{\circ} 53'O$) située à proximité de la station argentine Melchior, à l'ouest de la Péninsule Antarctique du 16 mars au 10 novembre 2006 (figure 1). Quatre différentes profondeurs basées sur la pénétration de la lumière et la concentration en chlorophylle a (chl-a) ont été ciblées. Ces profondeurs correspondaient à 1) 100 % de la lumière incidente, 2) 50 % de lumière incidente ou maximum de chl-a, 3) 0,1 % de la lumière incidente en surface et 4) zone aphotique représentée par la profondeur se situant 50 m en dessous de la zone présentant 0,1% de lumière incidente. Quand la différence entre les deux dernières profondeurs était inférieure à 10 m, un seul échantillon a été récolté. Les profondeurs choisies pour l'échantillonnage sont le résultat d'un consensus entre les différents chercheurs impliqués dans le projet et elles visent en premier lieu à déterminer la dynamique du phytoplancton ainsi que les processus photochimiques dans la colonne d'eau.

Les échantillons récoltés pour les mesures d'abondance de bactéries totales et du pourcentage de cellules à haut contenu en acides nucléiques (HNA%) ont été fixés au glutéraldéhyde (Concentration finale: 0,1 %) et conservés en triplicatas dans des cryovials

de 5 ml à -80°C jusqu'à leur analyse par cytométrie en flux (CMF) à l'ISMER. Les échantillons pour l'analyse de la diversité (deux réplicats de 500 ml d'eau, aux différentes profondeurs) ont été filtrés sur des membranes en polycarbonate (PC) blanches de 25 mm de diamètre et de porosité 0,2 µm (ISOPORE™). Les filtres ont ensuite été placés dans des boîtes de pétri stériles et conservés à -80°C jusqu'à leur analyse en laboratoire par PCR-DGGE (réaction de polymérisation en chaîne couplée à une électrophorèse en gel à gradient dénaturant).

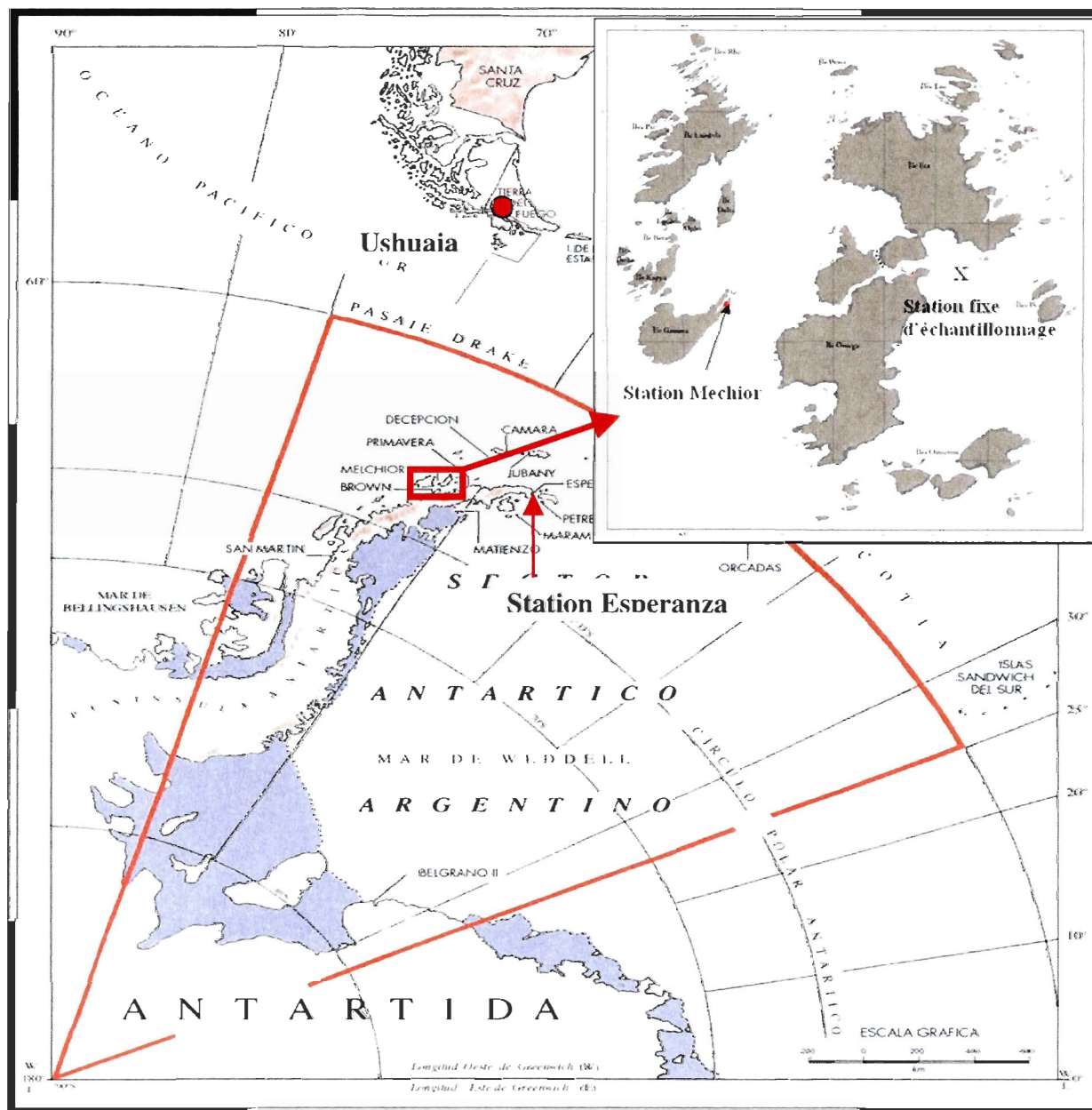


Figure 1 : Localisation de la station fixe d'échantillonnage durant l'automne, l'hiver et le printemps austral 2006, de la station Esperanza et de la ville d'Ushuaia (gracieuseté de G. Ferreyra).

2.1.2 Analyses en conditions contrôlées (mésocosmes, été austral 2008)

L'expérience en conditions contrôlées devait initialement être réalisée sur une station argentine située dans le Nord de la Péninsule Antarctique (station Esperanza, figure 1) au cours du mois de décembre 2008 afin de cibler les mêmes communautés planctoniques que celles étudiées lors de l'analyse en milieu naturel. Toutefois, en raison de problématiques logistiques au niveau du transport des mésocosmes sur le continent antarctique, cette expérience a été réalisée en février 2008 (du 10 au 19 février) et elle a dû être relocalisée dans la zone du canal Beagle, en proximité de la ville d'Ushuaia (Terre de Feu, Argentine, voir figure 1). La situation sub-antarctique du canal Beagle ($54^{\circ} 50.349'S$, $68^{\circ}15.943'O$) entraîne que les communautés planctoniques présentes dans cette zone sont affectées au même titre que les communautés antarctiques à des RUVB importantes au début de la période de forte production primaire compte tenu des faibles concentrations en ozone stratosphérique. Toutefois, les températures mesurées dans la colonne d'eau sont beaucoup plus élevées que celles rencontrées en Antarctique et présentent une variabilité saisonnière majeure de 4 à 12 °C (Marcelo Hernando, comm. pers., base de données du CADIC). Huit mésocosmes ont été installés sur les terrains appartenant au CADIC-CONICET (Centro Austral de Investigaciones Científicas). Ces mésocosmes étaient constitués de cylindres en acier inoxydable de 2 m³ de contenance disposant d'un système de contrôle de la température et RUVB (figure 2a). Quatre traitements différents ont été effectués en duplicats (figure 2b): 1) conditions de température et de RUVB naturelles (contrôle), 2)

température augmentée et RUVB naturelles (T+), 3) température naturelle et RUVB augmentées (UVB+) et finalement 4) température et RUVB augmentées (UVB+T+) (figure 2b). Les mésocosmes à température naturelle ont été maintenus à 12°C, température de l'eau mesurée lors du remplissage des mésocosmes et qui correspond aux valeurs de surface typiques pendant la période d'échantillonnage dans le canal Beagle, pour toute la durée de l'expérience. Les mésocosmes à température augmentée ont quant à eux été maintenus à 15°C, soit une augmentation de 3°C par rapport à la température normale de l'eau en accord avec l'augmentation prévue pour les 50 prochaines années dans les eaux de la région d'Ushuaia par l'IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change 2007). Afin de reproduire artificiellement une augmentation des RUVB sans créer de biais de pénétration de lumière entre les différents mésocosmes UVB+ et UVB normal, quatre caissons de bois ont été placés au-dessus de chaque mésocosme (figure 2a). Ces caissons étaient vides dans les mésocosmes soumis aux RUVB naturelles et renfermaient chacun un tube fluorescent de type Phillips TL40W-12RS dans le cas des mésocosmes présentant une augmentation des RUVB. Le traitement UVB+ simule une augmentation des RUVB équivalent à une réduction de 60% dans la couche d'ozone stratosphérique (Díaz *et al.* 2006). Les tubes étaient recouverts d'une pellicule d'acétate qui était changée à chaque jour afin de bloquer les radiations UVC (Díaz *et al.* 2006) et ils étaient allumées entre 13h et 17h (heure locale Ushuaia), soit deux heures avant et après le midi solaire local, correspondant au pic naturel des RUVB dans le site.

Les mésocosmes ont été remplis avec de l'eau de mer puisée à l'embouchure de la baie d'Ushuaia et préalablement filtrée sur un filet de Nytex de 330 μm de maille afin d'enlever le mesozooplancton avant d'être distribuée de façon uniforme dans les huit mésocosmes. En raison de la faible abondance de nutriments dans l'eau prélevée avant l'expérience, un enrichissement en sels nutritifs a été réalisé de manière à obtenir une concentration finale de PO_4^{3-} et de Si(OH)_4 de 0,31 μM et une concentration finale de NO_3^- de 5 μM dans chaque mésocosme et ainsi recréer artificiellement les conditions trophiques typiques durant la période de cette étude dans le canal de Beagle (M. Hernando, comm. pers.). Ces concentrations sont basées sur le rapport de Redfield qui exprime le rapport d'équilibre entre les nutriments de la matière organique photosynthétique. Durant la nuit et lors de fortes pluies, les mésocosmes étaient recouverts par des membranes en polyéthylène afin de limiter la contamination. Les particules flottantes en surface étaient enlevées à chaque jour à l'aide d'un filet avant que les mésocosmes soient recouverts pour la nuit. Pour toute la durée de l'expérience, l'eau était constamment mélangée dans les mésocosmes à l'aide d'un système de recirculation (figure 3) couplé avec un système échangeur de chaleur permettant le contrôle de la température à l'intérieur des cuves. Les échantillons d'eau étaient prélevés à l'aide d'un tuyau tygon relié à une valve automatique située au fond des mésocosmes. L'échantillonnage a été réalisé sur une période de 10 jours. Les prélèvements ont été effectués le jour du remplissage des mésocosmes (T_0), lors de l'ajustement des températures et l'ajout des sels nutritifs (T_0+1) et lors des jours 1 à 8 où les mésocosmes étaient soumis aux différents traitements, le jour 1 correspondant au jour d'allumage des lampes dans les mésocosmes UV+. Des échantillons de 1L ont été récoltés

chaque jour à 17h, après la période d'exposition aux RUVB afin de déterminer l'abondance totale, le %HNA et la diversité bactérienne selon les protocoles présentés au paragraphe 2.2.2. En parallèle à cet échantillonnage spécifique, un échantillonnage général nous a permis de déterminer différentes variables environnementales classiques (température, salinité, oxygène dissous, chl-a, irradiance de la lumière visible et des UV).

a)



b)

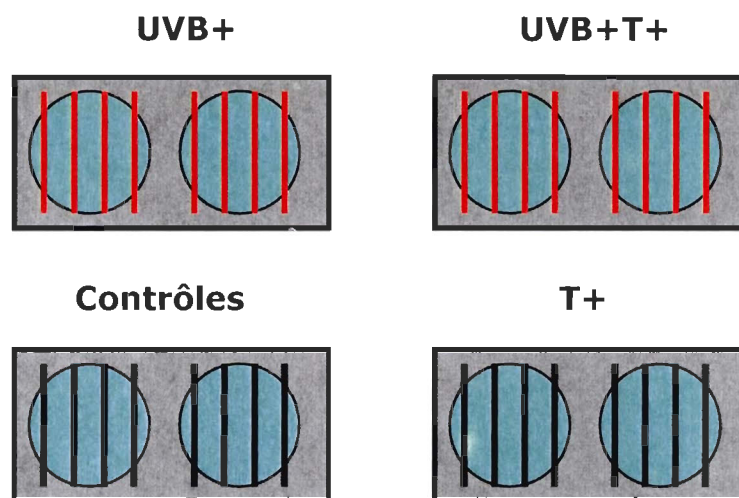


Figure 2 : a) Vue des mésocosmes à température et RUVB contrôlés installés à Ushuaia (Terre de Feu, Argentine) et b) répartition des mésocosmes selon leur traitement.

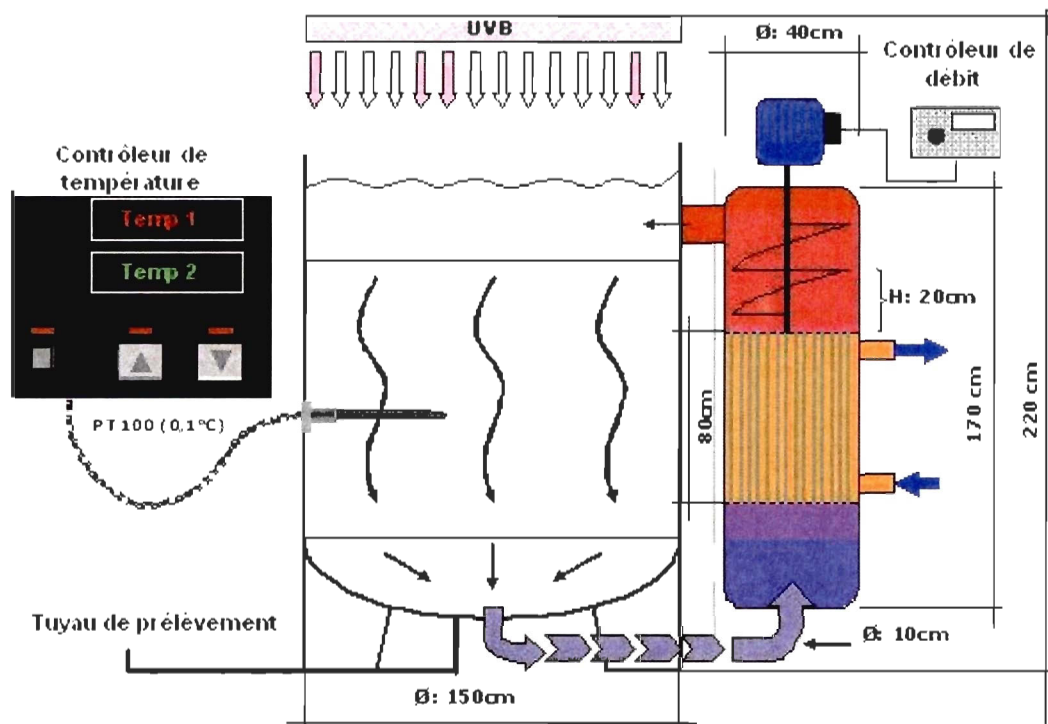


Figure 3 : Schéma conceptuel d'un mésocosme représentant la circulation générée dans les mésocosmes, les systèmes de contrôle de température et de lumière et l'emplacement du tuyau de prélèvement.

2.2 Variables environnementales mesurées

2.2.1 Variables de référence

Les mêmes variables de référence ont été mesurées durant notre travail de terrain et nos analyses en mésocosmes. Les profils de température, de salinité, de fluorescence et d'oxygène dissous ont été réalisés à l'aide d'un CTD *Seabird 9 plus*. La lumière incidente en surface a été mesurée à l'aide d'un spectroradiomètre GUV-541 (Ground-based Ultraviolet Radiometer, Biospherical Instruments inc.) ainsi que dans la colonne d'eau avec une sonde PUV-542T (Profiling Ultraviolet Radiometer, Biospherical Instruments Inc.). à

305, 313, 320, 340 et 380 nm dans la gamme des rayons ultraviolets et dans la gamme du PAR (photosynthetic active radiation, 400-700 nm). Les sels nutritifs (nitrates, phosphates et silicates) ont été mesurés à l'aide d'un Autoanalyseur AA3 (Bran+Luebbe) selon les recommandations de la compagnie. La concentration en chl-a a été mesurée par HPLC selon la méthode de Zapata *et al.* (2000) (M. Lionard, comm. pers.). L'abondance du petit phytoplancton (<10 µm) a été mesurée par cytométrie en flux (Marie et al. 1999) ce qui a permis de distinguer la variabilité de deux classes de tailles différentes, soit le picophytoplancton (< 2 µm) et le nanophytoplancton (entre 2 et 10 µm). Puisque la composition du phytoplancton a été démontrée comme un facteur influençant le bactérioplancton (Topping *et al.* 2006, Stoica et Herndl 2007), le % de nanophytoplancton a été calculé et mis en relation avec l'abondance bactérienne et le %HNA.

2.2.2 Variables bactériologiques

a) Abondance totale et %HNA

Après décongélation, deux aliquots de 1 ml ont été dilués au demi pour les échantillons récoltés en mer et deux aliquots de 1 ml ont été dilués au quart pour les échantillons des mésocosmes dans une solution tampon TE 10X (100 mM Tris-HCl, 10 mM EDTA, pH 8,0) puis marqués par 0,3 µl de solution stock de SYBR Green I ($C_i = 10\,000X$ invitrogen). Après une incubation de 15 minutes à l'obscurité et à la température de la pièce (Lebaron *et al.* 2001), les échantillons ont été analysés durant 4 minutes à l'aide d'un cytomètre en flux EPICS ALTRATM (Beckman Coulter) équipé d'un laser argon émettant à

488 nm. Des billes fluorescentes de 1 μm de diamètre (Polysciences YG) ont été systématiquement ajoutées à chaque échantillon comme standard interne afin de normaliser les valeurs de fluorescence cellulaire et les valeurs de diffusion de la lumière. L'abondance totale bactérienne a été établie sur un cytogramme présentant l'intensité de fluorescence verte enregistré à 530 ± 30 nm (FL1) en fonction de la lumière angulaire diffusée (SSC). Les cytogrammes obtenus ont permis de différencier les bactéries à haut contenu en acide nucléique (HNA) et les bactéries à bas contenu en acide nucléique (LNA). Les HNA étaient séparés des LNA afin de mieux définir la structure de la communauté bactérienne à l'aide du logiciel Expo32 v1.2b. Le pourcentage de HNA a ainsi été déterminé par le rapport HNA/abondance totale. Un graphique de la fluorescence verte en fonction de la fluorescence rouge a été utilisé pour distinguer les procaryotes photosynthétiques des non-photosynthétiques selon leur teneur en pigment. Sur un tel graphique, les procaryotes photosynthétiques se distinguent puisqu'ils fluorescent en rouge dû à leurs pigments photosynthétiques ainsi qu'en vert dû au marquage au SYBR Green I tandis que les procaryotes non-photosynthétiques fluorescent seulement en vert.

b) Diversité génétique

Extraction d'ADN

Les filtres ont d'abord été coupés en petits morceaux à l'aide de ciseaux stériles puis déposés dans des tubes stériles de 1,5 ml. Du tampon de lyse (840 μL) à pH 8 (40 mM EDTA, 50mM Tris, 0,75 M sucrose et eau stérile filtrée sur 0,2 μm) a été ajouté et les échantillons ont été agités pendant 30 secondes. La lyse des cellules a été poursuivie par

l'ajout de 50 μL d'une solution contenant 1 mg de lysozyme dans 1 mL d'eau saline EDTA (0,5M de NaCl et 0,01M de EDTA dans de l'eau stérile). Les tubes ont ensuite été incubés dans un bain-marie à 37°C pendant 45 minutes. Une solution de SDS 10% (100 μL) et une solution de protéinase K (10 μL à 20 mg/mL) ont été ajoutées avant une seconde incubation de 1 heure à 55°C.

L'ADN a été extrait en ajoutant 900 μL du mélange phénol-chloroforme-isoamyl-alcool (25:24:1) au lysat précédemment obtenu suivi par une centrifugation de 10 minutes à 13 400g. et d'une récupération de la phase aqueuse. Cette opération a été réalisée à deux reprises afin d'éliminer un maximum d'impuretés. Un volume de 800 μL de chloroforme-isoamyl alcool (24:1) a ensuite été ajouté suivi d'une centrifugation de 10 minutes à 13 400g. La phase aqueuse a été récupérée et un volume d'isopropanol 100% a été ajouté. Les tubes ont ensuite été congelés à -20°C pendant 2 heures pour permettre la précipitation de l'ADN puis centrifugés pendant 30 minutes à 16 100g. Après l'élimination du surnageant, 500 μL d'éthanol 70% ont été ajoutés et l'ensemble a été centrifugé pendant 20 minutes à 16 100g. après élimination du surnageant, les tubes ont été placés dans un évaporateur VacufugeTM (Eppendorf) pendant 20 minutes pour éliminer l'éthanol. Finalement, l'ADN a été conservé dans 60 μL de TE 1X (10mM tris-HCL, 1 mM EDTA) et 5 μL de RNase A (10 mg/mL) ont été ajoutés pour digérer l'ARN présent dans les tubes. Chaque extrait ainsi obtenu a ensuite été dosé par mesure de densité optique (DO) à 260 nm, 270 nm et 280 nm à l'aide d'un spectrophotomètre DU[®]800 (Beckman-Coulter). La DO 260 nm correspond à la longueur d'onde d'absorption de l'ADN et a permis de calculer la concentration de

l'ADN de chacun des échantillons. Le ratio DO 260/280 a permis de vérifier la pureté de la solution (Lemarchand *et al.* 2005) et le ratio DO 260/270 nous a permis de détecter une éventuelle contamination au phénol (Planken *et al.* 2005).

Amplification par PCR du gène ADNr16S et migration DGGE

Le gène 16S de l'ADNr a été amplifié par PCR en utilisant un ensemble d'amorces universelles : (1) 341F-GC (5'-CGC-CCG-CCG-CGC-CCC-GCG-CCC-GTC-CCG-CCG-CCC-CCG-CCC-GCC-TAC-GGG-AGG-CGA-CAG-3'), (2) 907R (5'-CCG-TCA-ATT-CMT-TTG-AGT-TT-3') selon le protocole de Schäfer et Muyzer (2001). Le mélange réactionnel était composé de 5 µL de tampon PCR 10X (QIAGEN), 200 µM d'un mélange de déoxynucléotide triphosphate (Biolabs Inc., New England), 50 pmol de chaque amorce, 1 U de Hotstar Taq polymérase (QIAGEN), 200 à 400 ng d'ADN extrait (200 ng pour la couche photique et les échantillons des mésocosmes et 400 ng pour la couche aphotique) et de l'eau stérile (pour compléter jusqu'à un volume total de 50 µL). L'amplification a été réalisée à l'aide d'un thermocycleur de type Mastercycler® epS (Eppendorf). Les cycles d'amplification ont été les suivants : une dénaturation initiale à 94°C pendant 15 minutes, suivie par 20 cycles de 1 minute de dénaturation à 94°C, 1 minute d'hybridation des amorces à 65°C avec une diminution de la température de 0,5°C (touchdown) à chaque cycle et 3 minutes d'élongation à 72°C. Par la suite, 15 cycles de 1 minute de dénaturation à 94°C, 1 minute d'hybridation des amorces à 55°C et de 3 minutes d'élongation à 72°C ont été appliqués. L'élongation finale a été réalisée à 72°C pendant 7 minutes. Chaque échantillon a été amplifié en triplicata afin de diminuer les biais de PCR sur les

observations de diversité (Perreault *et al.* 2007). Les amplicons obtenus ont été révélés par une électrophorèse sur un gel d'agarose 1% à 75 volts pendant 40 minutes. Après un marquage au bromure d'éthidium les gels ont été analysés sous une lampe UV à l'aide de l'appareil AlphaImager® HP (AlphaInnotech). (Agogué *et al.*, 2005a). Les amplicons ont été purifiés à l'aide de colonne de purification MinElute® (QIAGEN) selon les recommandations du manufacturier, et congelés à -20°C avant l'analyse par DGGE.

La migration DGGE a été réalisée à l'aide du système DGGE-4001-Rev-B (C.B.S. Scientific CO.). La migration des amplicons s'est effectuée sur un gel de polyacrylamide 6% (37,5:1) présentant un gradient de dénaturation de 20-80% selon les recommandations du manufacturier à un voltage et un ampérage constant de 100 volts et 35 milliampères pendant 17 heures (Schäfer et Muyzer 2001). Le gradient de dénaturation utilisé pour les échantillons prélevés dans les mésocosmes était de 0-80%. Après migration, le gel a été marqué à l'aide d'une solution de SYBR Green I (10000x, Molecular Probes, Oregon) à une concentration de 1/10000 pendant 60 minutes. Les gels ont été analysés et comparés entre eux à l'aide de l'appareil AlphaImager® HP (AlphaInnotech) combinés dans le cas des analyses en mésocosmes au logiciel Gelcompar II (Applied Maths Inc.).

2.3 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SYSTAT 12. Le seuil de signification (α) a été fixé à 0,05. Des corrélations ont été réalisées afin de mettre en évidence les relations entre l'abondance bactérienne, le %HNA et les variables environnementales mesurées. Le coefficient de Pearson (r) a été utilisé lorsque les distributions étaient normales. Dans le cas contraire, le coefficient de Spearman était utilisé pour faire état de la corrélation. La variation des abondances totales et du %HNA pour la couche photique et pour la couche aphotique a été testée par des ANOVA sur trois périodes distinctes; l'automne, l'hiver et le printemps austral pour les échantillons récoltés en mer lors de l'hivernage du Sedna IV. Un test de Levene a été effectué pour tester l'homogénéité des résidus et un test de Shapiro-Wilk a été utilisé pour tester la normalité. Lorsque l'ANOVA montrait une différence significative, un test de Tukey était réalisé pour déterminer à quel niveau se situait cette différence. Des tests de t ont été effectués afin de relever les différences significatives dans l'abondance bactérienne et le %HNA entre la couche photique et la couche aphotique pour une même saison. Finalement, des modèles de régression linéaire multiple ont été effectués afin d'identifier les paramètres les plus déterminants de l'abondance bactérienne et du %HNA dans la colonne d'eau ainsi que les paramètres les plus importants pour la diversité bactérienne dans la couche photique et la couche aphotique. Pour l'expérience réalisée en conditions contrôlées, des ANOVA à mesures répétées ont été effectués afin de déterminer si le traitement et le temps avaient des effets significatifs sur l'abondance bactérienne et le %HNA ainsi que pour tester si l'effet du traitement variait dans le temps pour ces deux mêmes paramètres. Des matrices de

similitudes utilisant l'indice de Jaccard (présence/absence de bandes dans les patrons de DGGE) ont été faites afin de comparer la diversité génétique bactérienne entre les différents échantillons de la PA. L'indice de Jaccard est utilisé pour étudier la similarité entre des objets constitués d'attributs binaires. Les échantillons ont également été regroupés par une méthode d'analyse de groupement (dendrogrammes) utilisant l'indice de Jaccard afin de faciliter la comparaison visuelle entre les échantillons. Le logiciel PAST 1.68 a été utilisé pour ces analyses. Pour l'expérience en mésocosme, les patrons de diversité bactérienne (DGGE) étaient complexes et ils présentaient une plus grande variabilité entre les échantillons comparativement aux échantillons de la PA. Ces analyses ont été réalisées avec le logiciel GelCompar II de la compagnie Applied Maths Inc. Une analyse multidimensionnelle (MDS) a été réalisée à partir d'une matrice de similitude utilisant l'indice de Jaccard pour comparer les différents échantillons de l'expérience en mésocosme (Allgaier *et al.* 2008). Par cette méthode, les échantillons ont été répartis dans l'espace selon trois dimensions (axes x, y et z) selon leur niveau de similarité.

3. RÉSULTATS

3.1 Suivi saisonnier des communautés bactériennes à l'ouest de la PA.

3.1.1 Abondance totale et %HNA

L'abondance bactérienne a varié entre un minimum de $1,2 \times 10^5$ cellules/ml au jour julien 224 (hiver) à la profondeur correspondant au maximum de chl-a et un maximum de $2,8 \times 10^5$ cellules/ml en surface au printemps (jour julien 303). Les cellules HNA ont dominé la communauté bactérienne durant toute la période d'échantillonnage. La valeur minimale de %HNA (53 %) a été mesurée dans la couche aphotique à la fin de l'automne (jour julien 170) et la valeur maximale (74%) a été atteinte dans la couche aphotique au printemps (jour julien 306). Le tableau 1 illustre les valeurs moyennes d'abondance bactérienne, du %HNA, d'abondance phytoplanctonique, du pourcentage de nanophytoplancton, de température, de chl-a et de la concentration en nitrites et nitrates au cours des trois saisons étudiées. L'évolution des communautés phytoplanctoniques au cours des trois saisons étudiées n'est pas explicitée dans le présent travail puisqu'elle fait l'objet du doctorat de Sébastien Moreau.

Tableau 1 : Valeurs moyennes et écarts-types des différents paramètres environnementaux pour l'automne (n=11), l'hiver (n=14) et le printemps austral (n=35) pour l'ensemble de la colonne d'eau échantillonnée.

Paramètres	Automne	Hiver	Printemps
Abondance bactérienne (x 10 ⁵ cellules/ml)	2,2 ± 0,3	1,7 ± 0,3	2,1 ± 0,4
%HNA (%)	60 ± 4	68 ± 4	66 ± 3
Abondance phytoplancton (cellules/ml)	1600 ± 900	2000 ± 1000	3000 ± 1000
Nanophytoplancton (%)	38 ± 3	55 ± 7	70 ± 10
Chl-a (µg/L)	0,14 ± 0,08	0,12 ± 0,07	0,3 ± 0,2
NO ₃ +NO ₂ (µmol/L)	27 ± 2	28 ± 1	28 ± 2
Température (°C)	-0,3 ± 0,6	-1,2 ± 0,6	-0,7 ± 0,6

Pour l'ensemble des profondeurs étudiées durant la période d'échantillonnage, des corrélations positives significatives ont pu être déterminées entre l'abondance bactérienne et la chl-a, l'abondance du phytoplancton, les RUVB, les RUVA et les radiations du PAR. Une corrélation positive significative a également été mesurée entre le %HNA et la profondeur (tableau 2). Les résultats ont démontré une absence de corrélation entre l'abondance bactérienne et le %HNA. L'abondance bactérienne a diminué significativement avec la profondeur et le %HNA a augmenté significativement avec la profondeur (tableau 2). En fait, les deux sous-populations ont diminué significativement en nombre, les LNA de façon plus importante ($r_s = -0,503$; $p < 0,001$) que les HNA ($r_s = -0,316$; $p < 0,02$). Le contenu en acide nucléique (FL1) des HNA a diminué significativement avec la profondeur ($r_s = -0,312$; $p < 0,05$) mais non leur taille relative (SSC) ($r_s = -0,233$; $p > 0,10$). Le contenu en acide nucléique ($r_s = -0,260$; $p > 0,10$) ainsi que

la taille relative des LNA ($r_s = -0,239$; $p > 0,10$) ne diminuait pas significativement avec la profondeur. L'abondance des LNA a varié davantage que l'abondance des HNA, avec des CV respectifs de 24 % et de 20 %. Il est donc intéressant de constater que la variation du %HNA était majoritairement associée à la variation du nombre des cellules LNA. Aucune corrélation entre la température et l'abondance bactérienne n'a pu être mise en évidence en considérant l'ensemble de la colonne d'eau. Par contre, des corrélations positives significatives ont été mesurées entre l'abondance bactérienne et la température en considérant les données provenant d'une même profondeur et ce pour les quatre profondeurs échantillonnées (données non présentées).

Tableau 2 : Coefficients de corrélations entre l'abondance bactérienne, le %HNA et a) les variables biologiques et b) les variables physico-chimiques pour l'ensemble de la colonne d'eau échantillonnée. Les valeurs marquées d'un * ont été obtenues par un test de corrélation de Pearson tandis que les autres ont été obtenues par un test de corrélation de Spearman. Les corrélations significatives apparaissent en caractère gras.

a)

	Chl-a	Abondance phytoplancton	%nanophy- toplancton	%HNA
Abondance bactérienne	0,587	0,603*	0,235	-0,087*
%HNA	-0,009	0,060	0,174	-

b)

	Profondeur	Température	NO ₃ +NO ₂	PAR	RUVB	RUVA
Abondance bactérienne	-0,467	-0,031	-0,234	0,544	0,532	0,586
%HNA	0,320	0,044	0,312	-0,008	-0,237	-0,201

Selon le modèle de régression linéaire multiple (tableau 3), les trois variables considérées expliquant le mieux la variation de l'abondance bactérienne dans la colonne d'eau sont en ordre décroissant d'importance : l'abondance phytoplanctonique, la température et le jour julien. Ces trois facteurs expliquent plus de 43% de la variance. Les trois variables identifiées comme étant les plus importantes pour expliquer la variation du %HNA parmi toutes les variables mesurées sont en ordre décroissant d'importance ; le jour julien, la profondeur et la température. Ces trois variables expliquent plus de 40 % de la variabilité.

Tableau 3 : Modèles de régression linéaire multiple indiquant les coefficients de régression $B = (X'X)^{-1}X'Y$ pour expliquer a) l'abondance bactérienne et b) le %HNA.

a)

Variable	Coefficient	Erreur standard	Std. Coefficient	Tolérance	t	Valeur de p
Constante	209244,617	18990,008	0,000		11,019	0,000
Jour julien	-228,753	84,340	-0,325	0,705	-2,712	0,009
Température	17839,993	6190	0,323	0,807	2,882	0,006
Abondance phytoplancton	27,903	4,178	0,873	0,592	6,678	0,000

b)

Variable	Coefficient	Erreur standard	Std. Coefficient	Tolérance	t	Valeur de p
Constante	48,956	2,760	0,000		17,740	0,000
Jour julien	0,042	0,009	0,489	0,996	4,686	0,000
Profondeur	0,070	0,017	0,685	0,385	4,078	0,000
Température	-3,086	1,138	-0,456	0,384	-2,711	0,009

Des profils verticaux illustrant l'évolution avec la profondeur de l'abondance bactérienne, du %HNA, de la chlorophylle a et de l'abondance phytoplanctonique pour quatre jours représentatifs de la période d'échantillonnage sont présentés aux figures 4 et 5.

Automne austral

Le profil vertical représentatif de l'automne austral (figure 4a) montre une faible variation des paramètres avec la profondeur ce qui est typique d'une colonne d'eau bien mélangée (voir annexe 1 ; figure A1.8). L'abondance bactérienne, la concentration en chl-a et l'abondance du phytoplancton diminuaient tous avec la profondeur. Le pourcentage de nanophytoplancton, non représenté sur la figure 4a, est demeuré stable avec la profondeur

avec une valeur moyenne dans la colonne d'eau de 42 ± 2 %. Le %HNA a diminué avec la profondeur et il s'agissait du seul moment durant toute la période d'étude (automne, hiver, printemps) où cette tendance a été observée. Pour tous les autres échantillonnages, et ce peu importe la saison, le %HNA augmentait avec la profondeur ou demeurait constant.

Hiver austral

Le profil vertical typique de l'hiver austral (figure 4b) illustre une augmentation de l'abondance bactérienne avec la profondeur et ce phénomène s'observait également au jour julien 224, qui était le point d'échantillonnage précédent. Cette augmentation de l'abondance bactérienne avec la profondeur était une observation unique à ces deux points d'échantillonnage. Dans ces cas particuliers, l'abondance bactérienne a varié à l'inverse de l'abondance phytoplanctonique dans la colonne d'eau mais dans le même sens que le %HNA qui a augmenté avec la profondeur. La proportion de nanophytoplancton est demeurée stable dans la colonne d'eau avec une valeur moyenne de 52 ± 2 %.

Printemps austral

Cette période était marquée par une stratification de la colonne d'eau entre les jours 280 et 303 (annexe 1 ; figure A1.8) dû à la fonte de la glace en surface (paramètre de Simpson entre 30 et 40). Les différents paramètres ont présenté une plus grande variabilité dans la colonne d'eau lors du printemps austral par rapport aux deux autres périodes d'étude. Pour cette période, deux profils sont présentés : le premier suit la fonte du couvert de glace (figure 5a) et le deuxième correspond au dernier jour d'échantillonnage (figure

5b). Suite à la fonte de la glace en surface, période où la colonne d'eau était bien stratifiée (annexe 1 ; figure A1.8), les paramètres présentaient une variabilité importante entre les différentes profondeurs. L'abondance bactérienne a diminué de $2,4$ à $1,7 \times 10^5$ cellules/ml entre 40 et 109 m de profondeur (50 % de lumière incidente et 0,1 % de lumière incidente) tandis que le %HNA a augmenté graduellement avec la profondeur pour passer de 65 à 71 % entre la surface et 109 m. L'abondance phytoplanctonique a diminué de 2490 à 1681 cellules/ml entre la surface et 109 m et la proportion de nanophytoplancton a chuté de 81 à 59 % entre ces deux mêmes profondeurs. Au dernier jour d'échantillonnage, l'abondance bactérienne a diminué avec la profondeur alors que le %HNA a augmenté. L'abondance phytoplanctonique a diminué avec la profondeur et la proportion de nanophytoplancton a chuté de 80 % en surface à 45 % à 101 m de profondeur (moins de 0.1% de lumière incidente). Les paramètres ont moins varié avec la profondeur au jour 314 comparativement au jour 299, où la colonne d'eau était plus stratifiée.

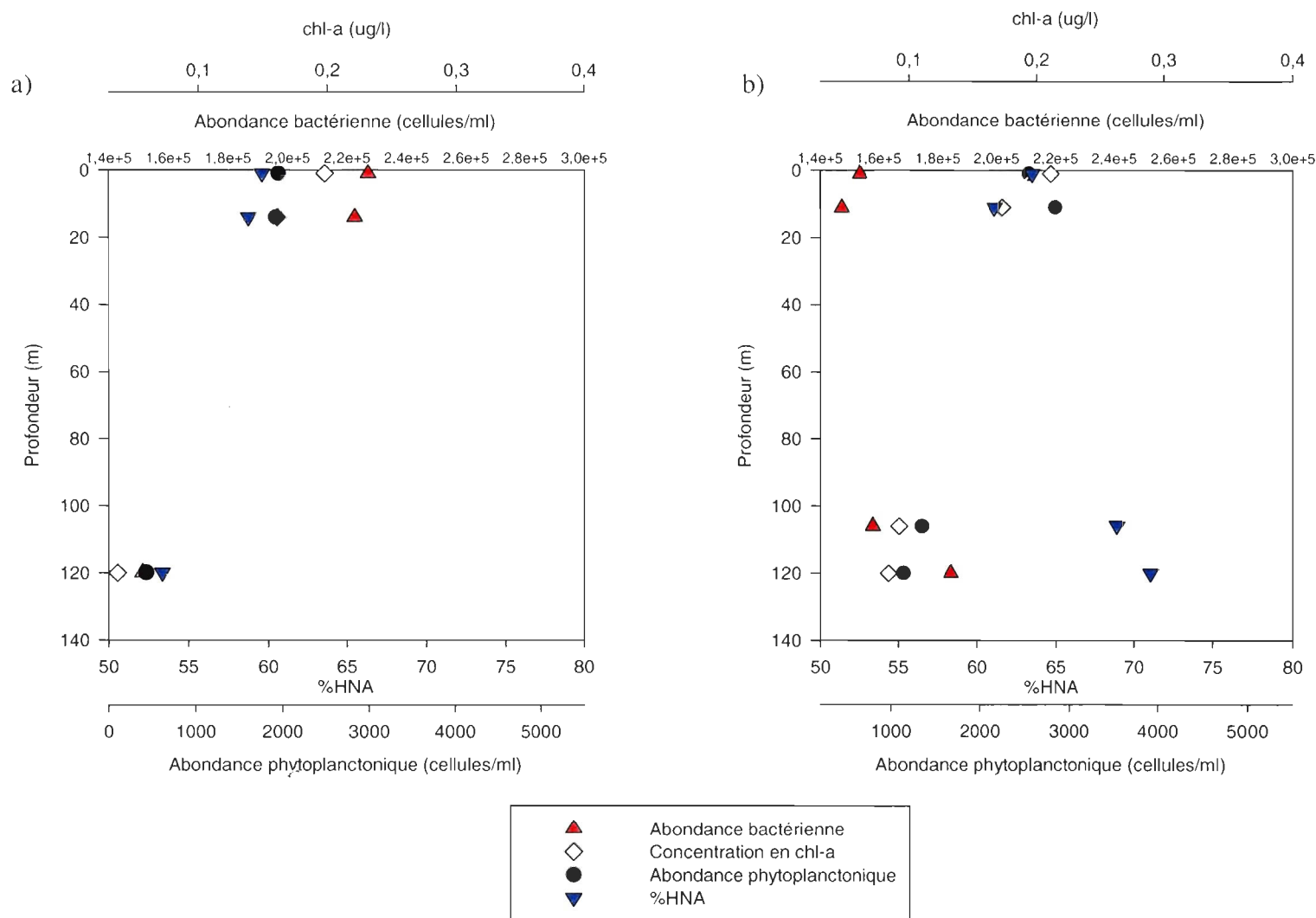


Figure 4 : Valeurs de chl-a, d'abondance phytoplanctonique, d'abondance bactérienne et de %HNA mesurées aux différentes profondeurs échantillonnées a) au jour 170 et b) au jour 241.

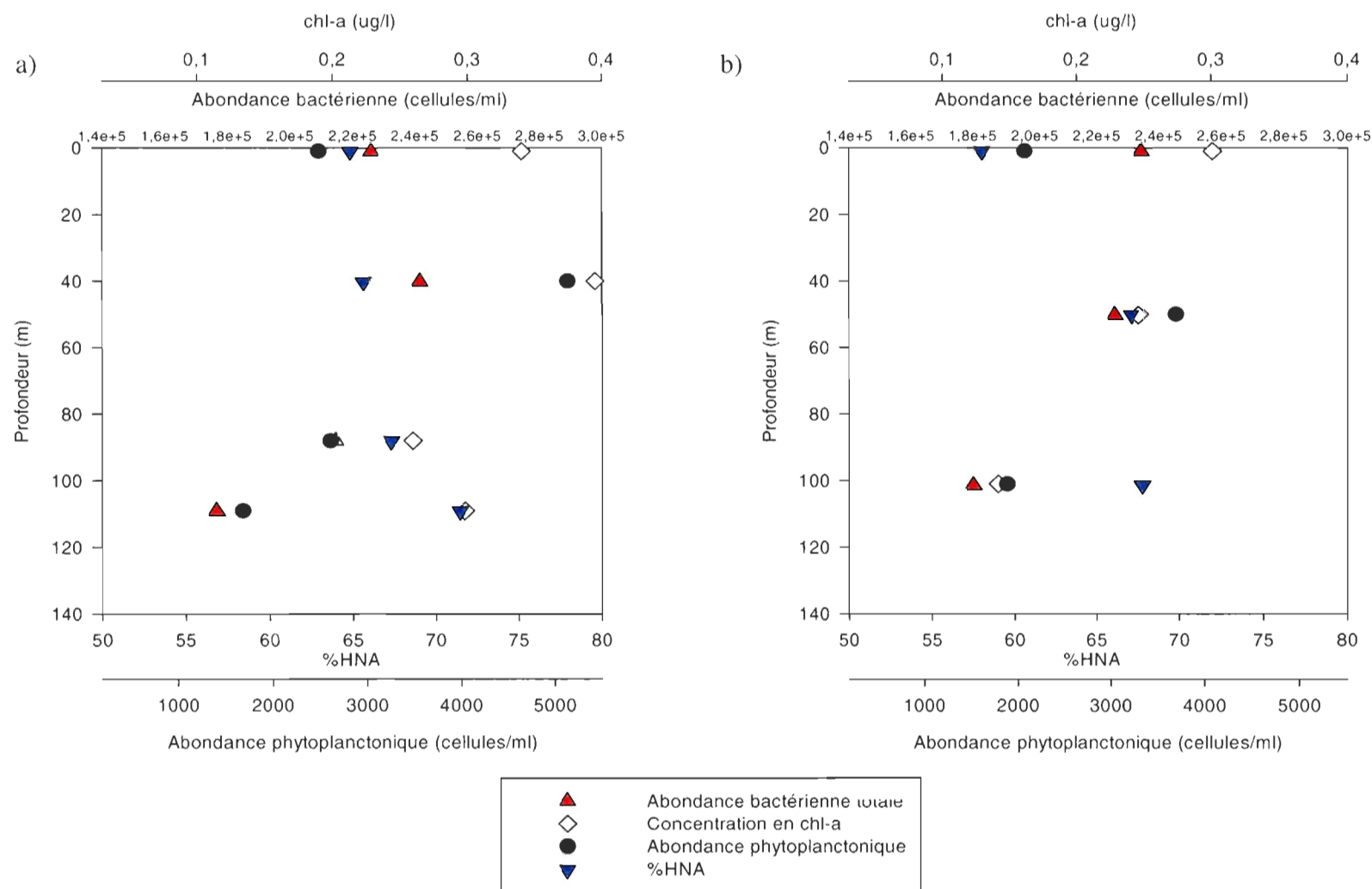


Figure 5 : Valeurs de chl-a, d'abondance phytoplanctonique, d'abondance bactérienne et de %HNA mesurées aux différentes profondeurs échantillonnées a) au jour 299 b) et au jour 314.

Variations saisonnières dans la couche photique

La première profondeur échantillonnée (100 % de lumière incidente) a été choisie pour représenter la couche photique. La figure 6a représente la variation saisonnière de l'abondance bactérienne et du %HNA et illustre clairement une décroissance de l'abondance bactérienne entre l'automne et le milieu de l'hiver austral (jour 224). L'abondance bactérienne a diminué de $1,3 \times 10^5$ cellules/ml entre les jours 154 et 224. Cette période est également marquée par une augmentation de 12 % du %HNA, démontrant une régulation différente de l'abondance et du %HNA ainsi qu'une modification dans la physiologie des communautés en place. L'abondance bactérienne a ensuite augmenté avec l'arrivée du printemps. Cette augmentation était davantage marquée à partir du jour julien 291 et elle suivait l'augmentation de l'abondance du phytoplancton. Finalement, l'abondance bactérienne et le %HNA ont diminué pour le dernier point d'échantillonnage qui correspondait au maximum d'intensité des radiations solaires (annexe 1 ; figure A1.1). Cette période était également marquée par une décroissance de l'abondance du phytoplancton, diminuant de 4790 à 2097 cellules/ml entre les jours 306 et 314 (S. Moreau, comm. pers.). L'abondance des cellules LNA a suivi celle des HNA, à l'exception des jours 257 et 303, où l'augmentation des HNA était plus importante que celles des LNA. Entre les jours 306 et 314, période marquée par une diminution de l'abondance bactérienne et du %HNA, le nombre de LNA a augmenté de $1,3 \times 10^4$ cellules/ml alors que le nombre de HNA a diminué de $4,7 \times 10^4$ cellules/ml.

L'abondance bactérienne a varié significativement entre les saisons dans la couche photique ($F_{2,13} = 8,575$; $p = 0,004$). L'abondance bactérienne était significativement inférieure en hiver comparativement à l'automne (test de Tukey, $p = 0,013$) et au printemps (test de Tukey, $p = 0,005$). Par contre, il n'y avait pas de différence significative dans l'abondance bactérienne entre l'automne et le printemps (test de Tukey, $p = 0,922$). Le %HNA a varié significativement entre les saisons dans cette même couche ($F_{2,13} = 3,866$; $p = 0,048$). Le %HNA était significativement inférieur à l'automne comparativement à l'hiver (test de Tukey, $p = 0,046$) mais aucune différence significative n'a été mesurée entre l'hiver et le printemps (test de Tukey, $p = 0,093$) ni entre l'automne et le printemps (test de Tukey, $p = 0,664$).

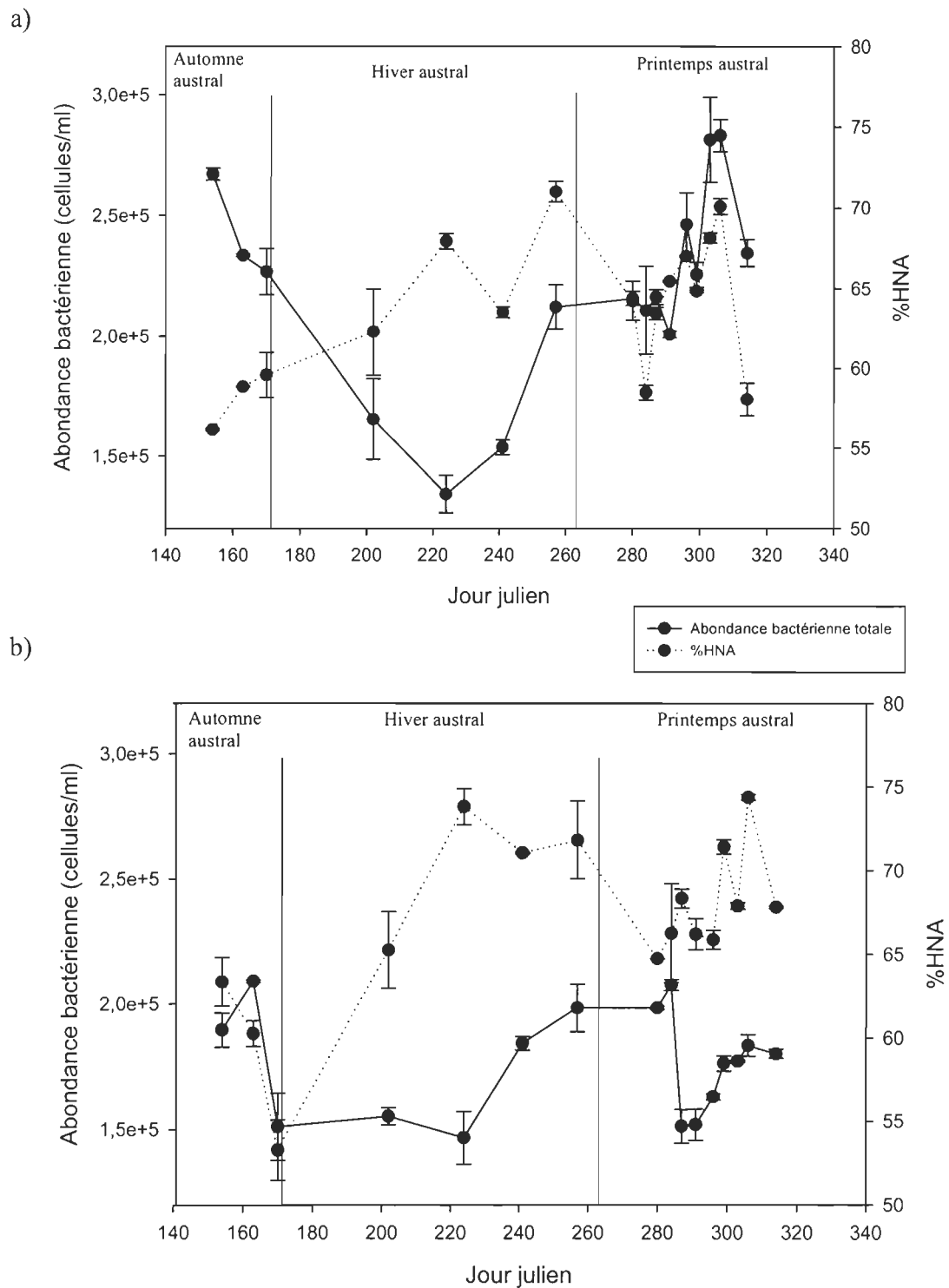


Figure 6 : Variation saisonnière de l'abondance bactérienne et du %HNA dans a) la couche photique et b) la couche aphotique. Les lignes verticales continues séparent les saisons.

Variations saisonnières dans la couche aphotique

La couche aphotique correspondait à la quatrième profondeur échantillonnée, c'est-à-dire la profondeur où l'intensité de la lumière est inférieure à 0,1 % de la lumière incidente. En hiver, la diminution de l'abondance bactérienne dans la couche aphotique était moins marquée que dans la couche photique (figure 6b). L'abondance bactérienne a diminué de $0,4 \times 10^5$ cellules/ml entre les jours 154 et 224, puis augmenté dès le milieu de l'hiver. Finalement, elle a diminué de $0,5 \times 10^5$ cellules/ml au printemps entre les jours 284 et 287, période suivant le maximum du trou dans la couche d'ozone. Le %HNA a augmenté de façon importante de la fin de l'automne jusqu'en milieu d'hiver (du jour julien 170 à 224), passant de 53 à 74 % et il a varié par la suite entre 65 et 74%. L'augmentation importante du %HNA qui est survenue au cours de l'hiver dans la couche aphotique était due à une diminution des LNA, mais surtout à une augmentation marquée du nombre de HNA lors de cette période. Suite à la période du maximum du trou dans la couche d'ozone (jour 260 à 282, voir annexe 1), le nombre de HNA a augmenté davantage que le nombre de LNA. Entre les jours 306 et 314, le nombre de LNA a augmenté de $1,1 \times 10^4$ cellules/ml tandis que le nombre de HNA a diminué de $1,4 \times 10^4$ cellules/ml.

L'abondance bactérienne ne variait pas significativement entre les saisons dans la couche aphotique ($F_{2,13} = 0,253$; $p = 0,780$). Par contre, le %HNA a montré une variabilité significative entre les saisons dans cette couche ($F_{2,13} = 10,567$; $p = 0,002$). Le %HNA était significativement inférieur en automne comparativement à l'hiver (test de Tukey, $p =$

0,002) et au printemps (test de Tukey, $p = 0,004$). Aucune différence significative du %HNA n'a été observée entre l'hiver et le printemps (test de Tukey, $p = 0,489$).

Les seules différences significatives observées entre la couche photique et la couche aphotique se situaient au printemps. Pour cette période, le %HNA était significativement supérieure dans la couche aphotique que dans la couche photique ($t_8 = 2,817$; $p = 0,023$), tandis que l'abondance bactérienne était significativement supérieure dans la couche photique que dans la couche aphotique ($t_8 = 5,115$; $p = 0,001$).

3.1.2 Diversité bactérienne

L'analyse de la diversité bactérienne par DGGE a été réalisée pour tous les échantillons de la couche photique et de la couche aphotique. Les patrons de DGGE montrent plusieurs bandes distinctes pour chaque échantillon (figures 7 et 8). Les bandes différentes correspondent à des séquences différentes du gène ADNr 16S généralement appelées des unités taxonomiques opérationnelles (UTO) différentes. Pour l'analyse des empreintes, les bandes de DGGE ont été séparées de manière arbitraire en deux types, soient les bandes primaires dont l'intensité est forte et qui sont récurrentes pour tous les échantillons d'une même profondeur et les bandes secondaires qui ont une intensité moindre et dont la présence varie d'un échantillon à l'autre. Un exemple d'une bande primaire et d'une bande secondaire est représenté à la figure 7.

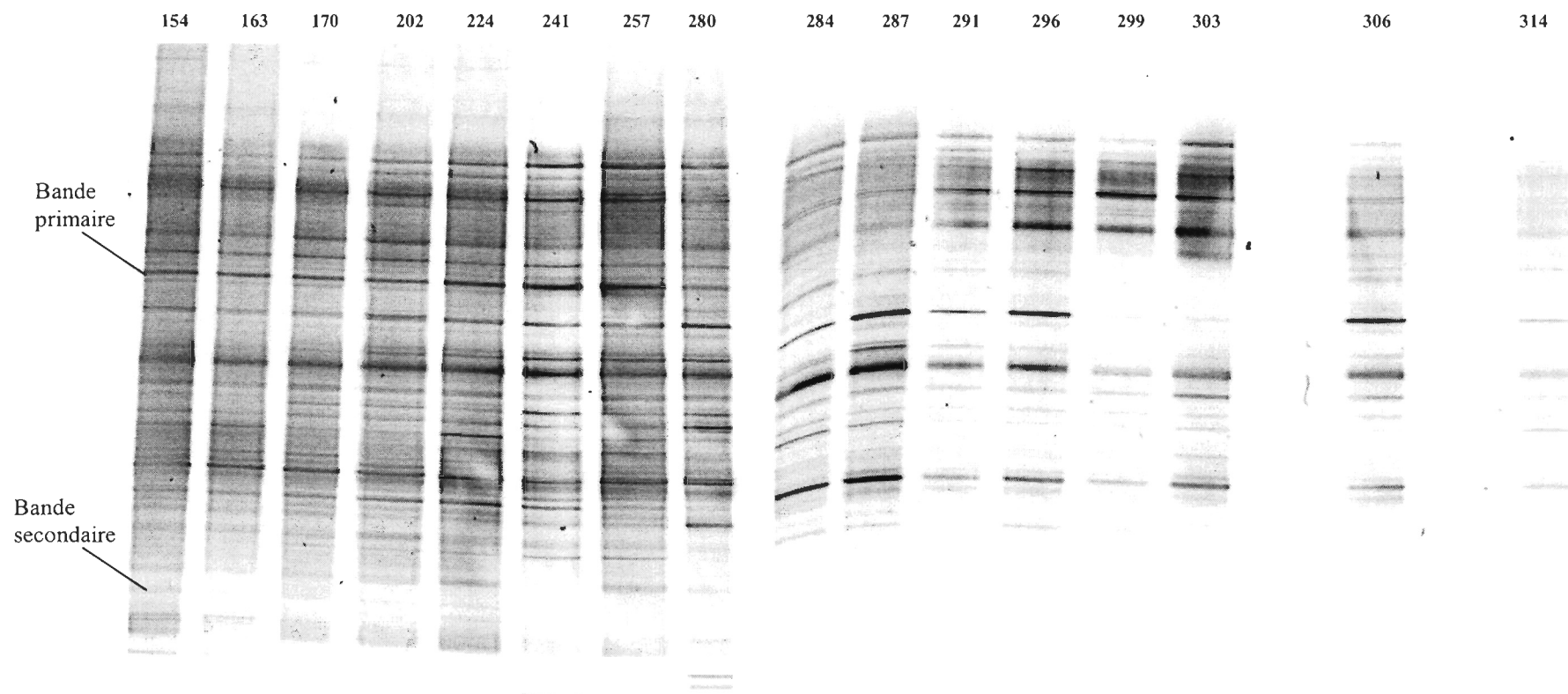


Figure 7 : Empreinte de DGGE pour les 16 échantillons de la couche photique. Les jours juliens sont inscrits en haut des échantillons et un exemple de bande primaire et de bande secondaire est illustré.

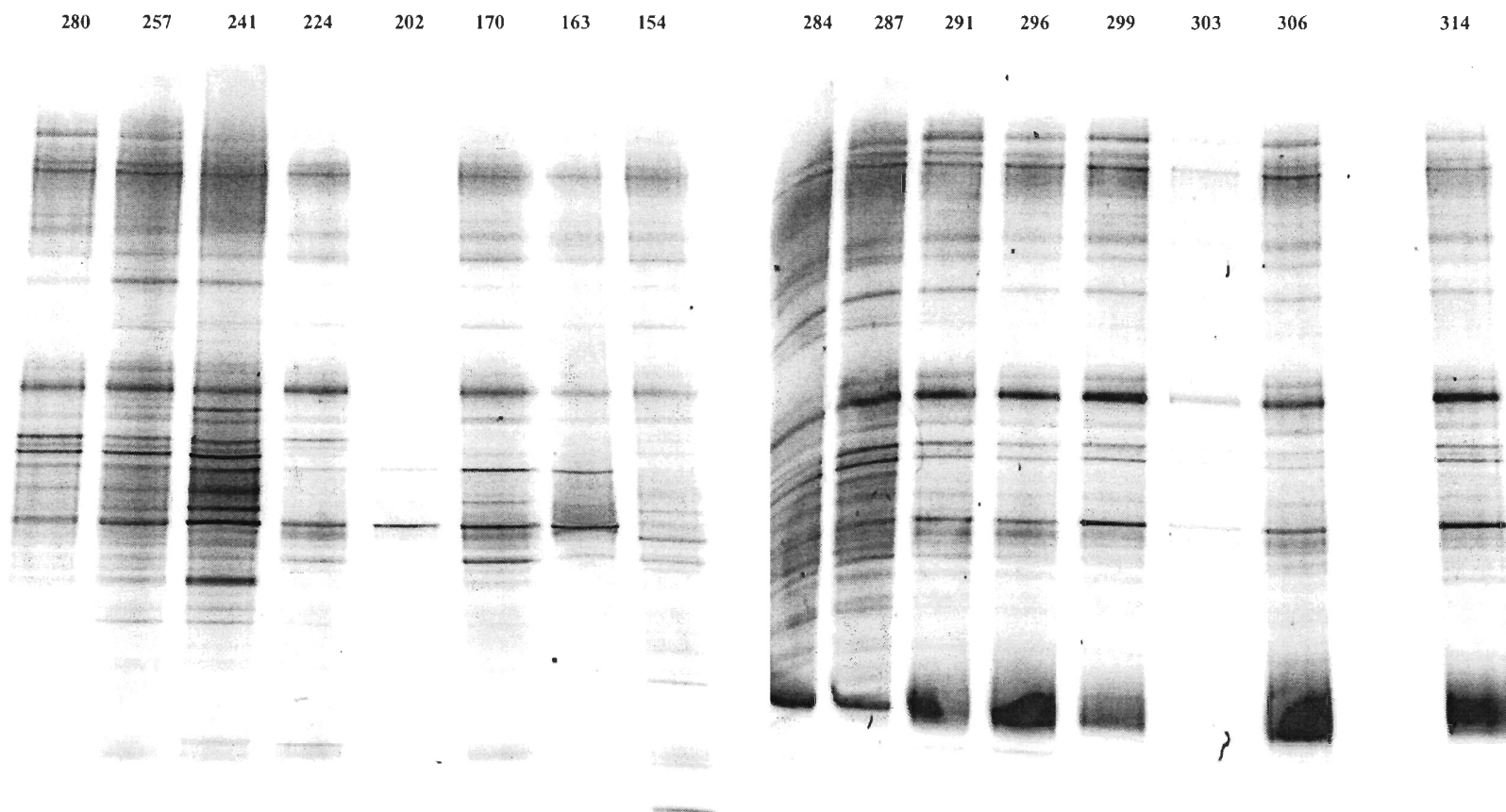


Figure 8 : Empreinte de DGGE pour les 16 échantillons de la couche aphotique. Les jours juliens sont inscrits en haut des échantillons.

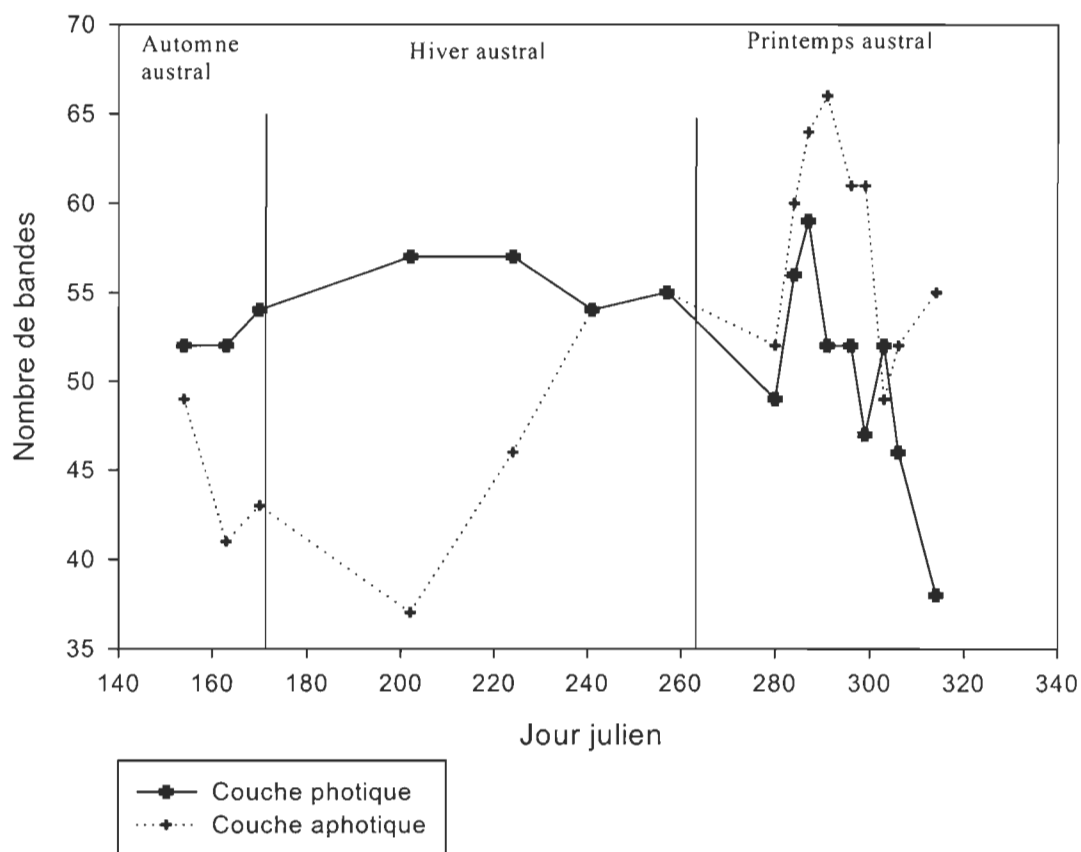


Figure 9 : Nombre de bandes identifiées par DGGE pour les échantillons de la couche photique et de la couche aphotique. Les lignes verticales continues séparent les saisons.

La diversité bactérienne était stable à l'automne et à l'hiver dans la couche photique et elle a atteint un pic au printemps avant de présenter une importante décroissance en milieu de printemps (figure 9). Elle a diminué en hiver dans la couche aphotique et elle a augmenté par la suite avec l'arrivée du printemps pour atteindre un pic puis elle a diminué au milieu du printemps. La diversité bactérienne était supérieure dans la couche photique

comparativement à la couche aphotique lors de l'automne et de l'hiver. Au printemps, elle est devenue supérieure dans la couche aphotique comparativement à la couche photique.

Tableau 4 : Coefficients de corrélations entre le nombre de bandes mesuré dans la couche photique et dans la couche aphotique et a) les variables biologiques et b) les variables physico-chimiques. Les valeurs marquées d'un * ont été obtenues par un test de corrélation de Spearman tandis que les autres ont été obtenues par un test de corrélation de Pearson. Les corrélations significatives apparaissent en caractère gras.

a)

Bandes DGGE	Chl-a	Abondance phytoplancton	% nanophyto-plancton	Abondance bactérienne	% HNA
Couche photique	-0,492	-0,162	-0,285*	-0,464	0,108
Couche aphotique	0,546	0,485	0,438	-0,038	0,367

b)

Bandes DGGE	Température	NO ₃ +NO ₂	PAR	RUVB	RUVA
Couche photique	-0,705	0,563	-0,500*	-0,735*	-0,736*
Couche aphotique	-0,249*	0,161	0,000*	0,000*	0,000*

Dans la couche photique, des corrélations négatives significatives ont été mesurées entre la diversité bactérienne (nombre de bandes), la température, les RUVB et les RUVA. (tableau 4). Une corrélation positive significative entre la diversité bactérienne et la concentration en nitrite et nitrate a également été mesurée dans cette couche. Des corrélations élevées négatives mais non significatives ont été obtenues entre la diversité bactérienne et l'abondance bactérienne ($p = 0,071$) ainsi qu'avec la concentration en chlorophylle a ($p = 0,053$). Dans la couche aphotique, la diversité bactérienne était corrélée significativement seulement avec la concentration en chlorophylle a ($p = 0,029$). Des corrélations positives élevées mais non significatives ont également été mesurées entre la

diversité bactérienne et l'abondance phytoplanctonique ($p = 0,059$) et la composition du nanophytoplancton ($p = 0,087$). Le modèle de régression linéaire réalisé pour faire ressortir les variables les plus déterminantes pour expliquer la diversité bactérienne dans la couche photique n'est pas significatif ($p = 0,196$) tout comme celui réalisé pour la diversité bactérienne dans la couche aphotique ($p = 0,141$). La taille de l'échantillon ($n=16$) était probablement trop faible dans chaque couche pour rendre les modèles significatifs.

L'analyse des patrons de DGGE démontre qu'il y a eu une évolution de la diversité bactérienne au cours du temps puisque l'indice de Jaccard montre une perte de similitude de l'automne au printemps austral autant pour la couche photique que pour la couche aphotique (tableau 5). Pour les deux couches, ces changements sont attribuables à la présence et à l'absence de bandes secondaires et non aux bandes primaires qui ont persisté tout au long de la période d'échantillonnage pour une même profondeur. Les dendrogrammes obtenus à partir des matrices de similitude montrent également une évolution de la diversité bactérienne dans le temps pour les deux couches étudiées (figure 10). Pour les deux couches, il y a une première séparation en deux groupes à près de 60% de similitude. Cette séparation semble venir d'un biais expérimental due au fait que les deux groupes d'échantillons ont migré sur deux gels différents. Mis à part quelques exceptions, les échantillons sont répartis en ordre chronologique dans les dendrogrammes. Les dendrogrammes montrent des groupes d'échantillons de forte similarité entre eux. Pour la couche photique, les jours 284, 287, 241 et 296 sont similaires à environ 91 %, les jours 299 et 303 à 86 %, les jours 306 et 314 à 82 %, les jours 202, 224, 241 et 257 à 90 % tandis

que les jours 170, 163 et 154 sont similaires entre eux à environ 92 %. Pour la couche aphotique, les jours 284, 287 et 291 sont similaires à environ 82 %, les jours 296 et 299 à 98 %, les jours 303, 306 et 314 à 90 %, les jours 241, 257 et 280 à 92 %, les jours 224 et 154 à 86 % et les jours 163, 170 et 202 à 86 % également.

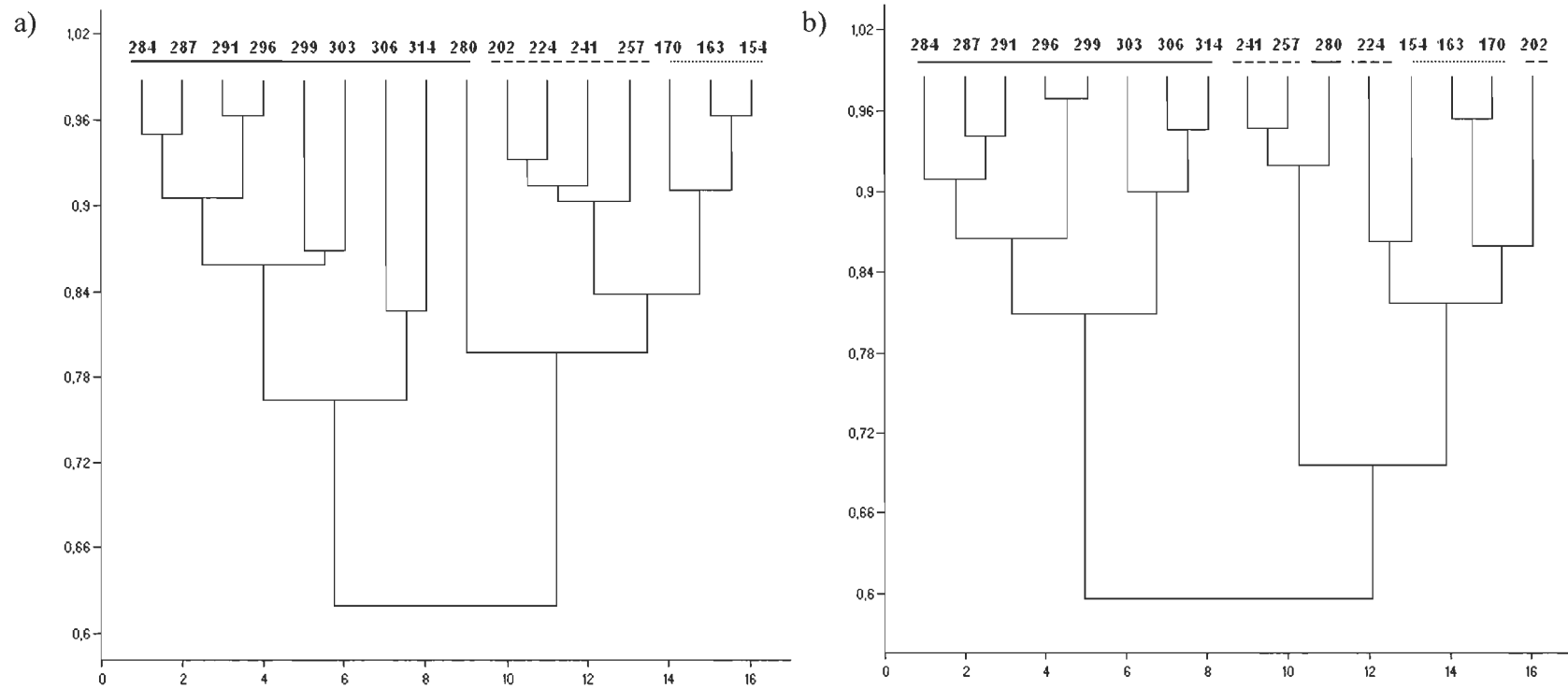


Figure 10 : Dendrogrammes illustrant le degré de similitude (échelle verticale) entre les échantillons selon l'indice de Jaccard pour a) la couche photique et b) la couche aphotique. Les échantillons du printemps sont soulignés d'une ligne continue, les échantillons de l'hiver sont soulignés par une ligne discontinue et les échantillons de l'automne sont soulignés d'une ligne pointillée.

3.2. Suivi des communautés bactériennes soumises aux différents traitements en conditions contrôlées (mésocosmes).

3.2.1. Abondance bactériennes et %HNA

La figure 11 illustre une diminution de l'abondance bactérienne d'environ 1×10^6 cellules/ml entre le jour 0 et le jour 3 dans l'ensemble des mésocosmes. Par la suite, l'abondance bactérienne dans les 3 traitements et le contrôle a augmenté pour atteindre des valeurs maximales moyennes de $2,3 \times 10^6$ cellules/ml pour le T+ et de $2,5 \times 10^6$ cellules/ml pour le UVB+T+ au jour 6 et de $3,3 \times 10^6$ cellules/ml pour le contrôle au jour 7. L'abondance bactérienne a diminué par la suite jusqu'à la fin de l'expérience pour ces deux traitements et le contrôle. L'abondance bactérienne a augmenté jusqu'à la fin de l'expérience dans le traitement UVB+ pour passer de $1,0$ à $3,0 \times 10^6$ cellules/ml entre les jours 3 et 8. Les résultats de l'ANOVA à mesures répétées ont démontré un effet significatif du traitement ($F_{3,4} = 15,976$; $p = 0,011$) et du temps ($F_9 = 67,476$; $p < 0,001$) sur l'abondance bactérienne au cours de l'expérience (tableau 6a). L'effet du traitement a également varié significativement en fonction du temps ($F_{27} = 4,686$; $p < 0,001$). Les résultats présentés à la figure 11 montrent que seule l'augmentation de température a eu un effet sur l'abondance bactérienne et cet effet est apparu seulement à partir du jour 6 et s'est amplifié jusqu'à la fin de l'expérience.

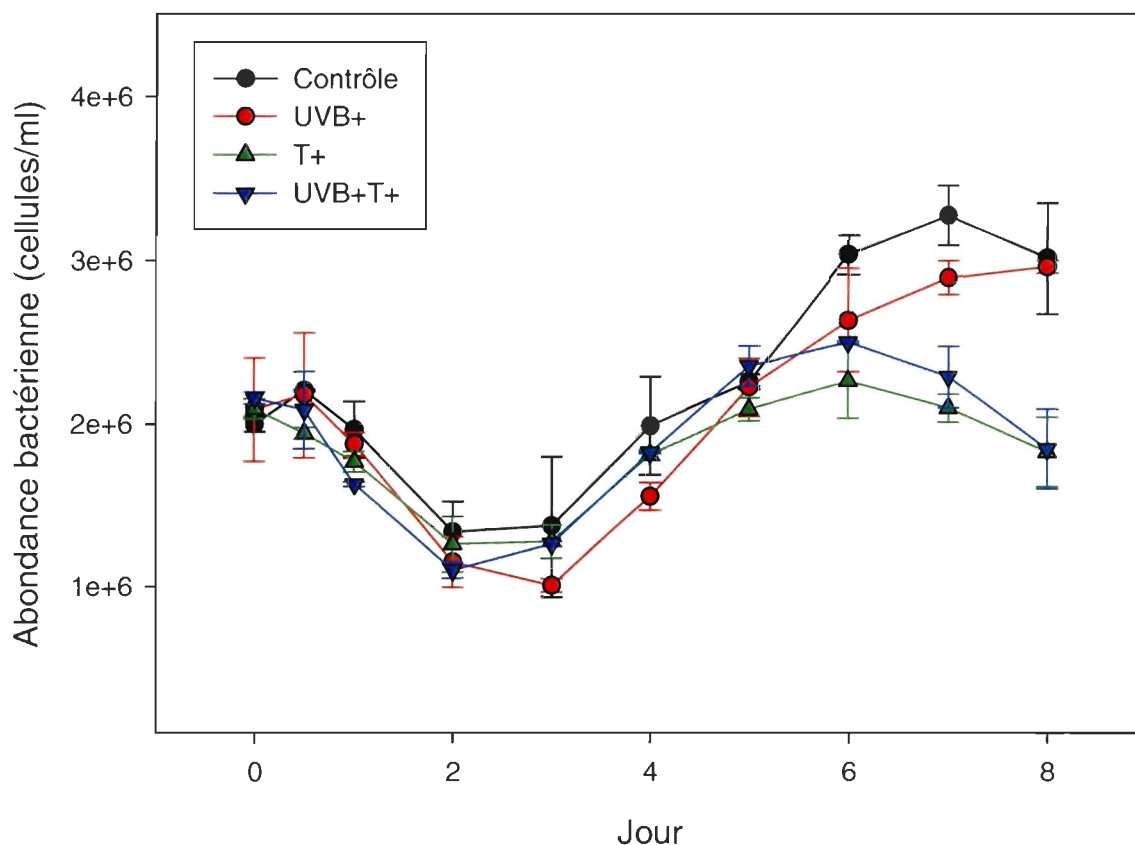


Figure 11 : Abondance bactérienne moyenne et écart-type des réplicats pour les trois traitements et le contrôle en fonction du temps.

Le %HNA a présenté une variation de 1 et 11% selon le traitement entre le jour 0 et le jour 2 (figure 12). Le %HNA a ensuite augmenté entre le jour 2 et le jour 7 et il est passé d'une moyenne de 44 % à 72 % pour les trois traitements et le contrôle. Le %HNA a diminué d'environ 6 % pour le contrôle et le traitement UVB+ entre le jour 7 et le jour 8. Le %HNA a diminué de 2 % pour le traitement T+ et de 5 % pour le traitement UVB+T+ pour cette même période. Le %HNA n'a pas varié significativement entre les traitements et le contrôle ($F_{3,4} = 3,867$; $p = 0,112$) mais il a varié significativement avec le temps ($F_9 =$

82,629 ; $p < 0,001$) (tableau 6b). Aucune interaction significative n'a été mesurée entre le traitement et le temps ($F_{27} = 1,688$; $p = 0,071$).

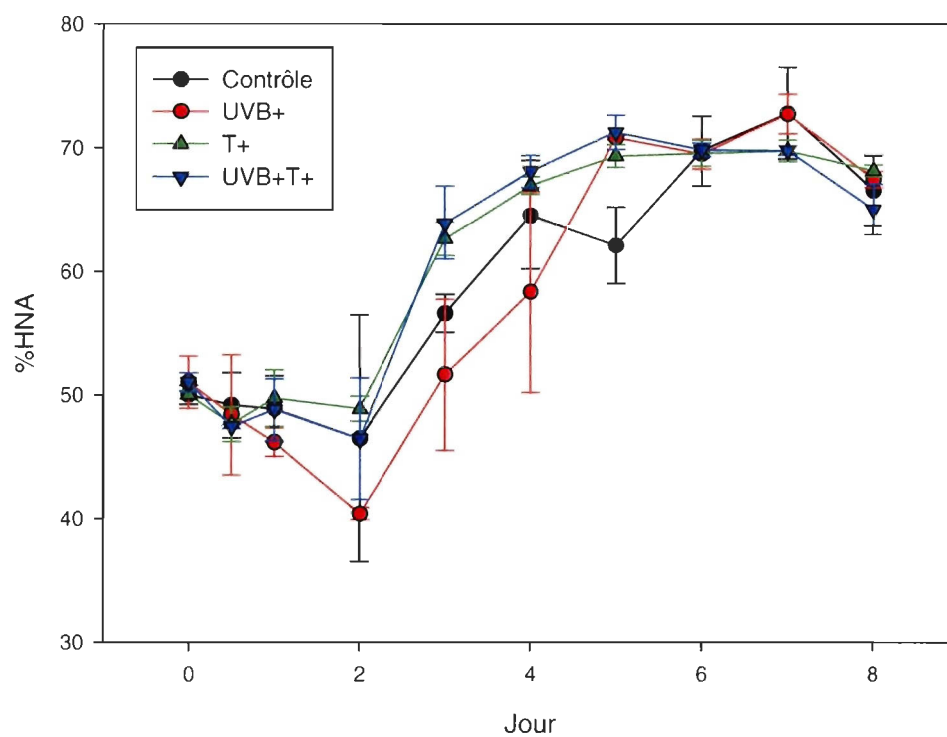


Figure 12 : %HNA moyen et écart-type des réplicats pour les trois traitements et le contrôle en fonction du temps.

Tableau 6 : Résultats de l'ANOVA à mesures répétées pour a) l'abondance bactérienne et b) le %HNA.

a) **Inter groupe**

Source	SS	df	Carré moyen	F-ratio	Valeur de p
Traitement	1.928E+012	3	6.425E+011	15,976	0,011
Erreur	1.609E+011	4	4.022E+010		

Intragroupe

Source	SS	df	Carré moyen	F-ratio	Valeur de p	G-G	H-F
Temps	1.850E+013	9	2.056E+012	67.476	0,000	0,000	0,000
Temps*traitement	3.854E+012	27	1.427E+011	4.686	0,000	0,024	0,000
Erreur	1.097E+012	36	3.046E+010				

b) **Inter groupe**

Source	SS	df	Carré moyen	F-ratio	Valeur de p
Traitement	90,337	3	30.112	3.867	0,112
Erreur	31,150	4	7.787		

Intragroupe

Source	SS	df	Carré moyen	F-ratio	Valeur de p	G-G	H-F
Temps	7402,56	9	822,507	82,629	0,000	0,000	0,000
Temps*traitement	453,788	27	16,807	1,688	0,071	0,240	0,094
Erreur	358,350	36	9,954				

La figure 13 illustre les relations entre l'abondance bactérienne et la concentration en chl-a pour les trois traitements et le contrôle. Le maximum de chl-a a été mesuré au jour 3 alors que la concentration moyenne par traitement a atteint des valeurs se situant entre 6,8 et 11,4 $\mu\text{g/l}$. La plus forte concentration moyenne de chl-a a été obtenue pour le traitement T+. Après le bloom, la concentration en chl-a a diminué jusqu'à la fin de l'expérience alors que l'abondance bactérienne a augmenté. La chute de la concentration en chlorophylle a entre le jour 3 et le jour 5 était plus drastique pour les deux traitements à température augmentée comparativement au contrôle et au traitement UVB+ (figure 13). Toutefois, les variations importantes de chl-a mesurées entre les deux réplicats contrôle et UVB+ ne permettent pas d'établir de relations significatives en raison des forts écart-type de mesure.

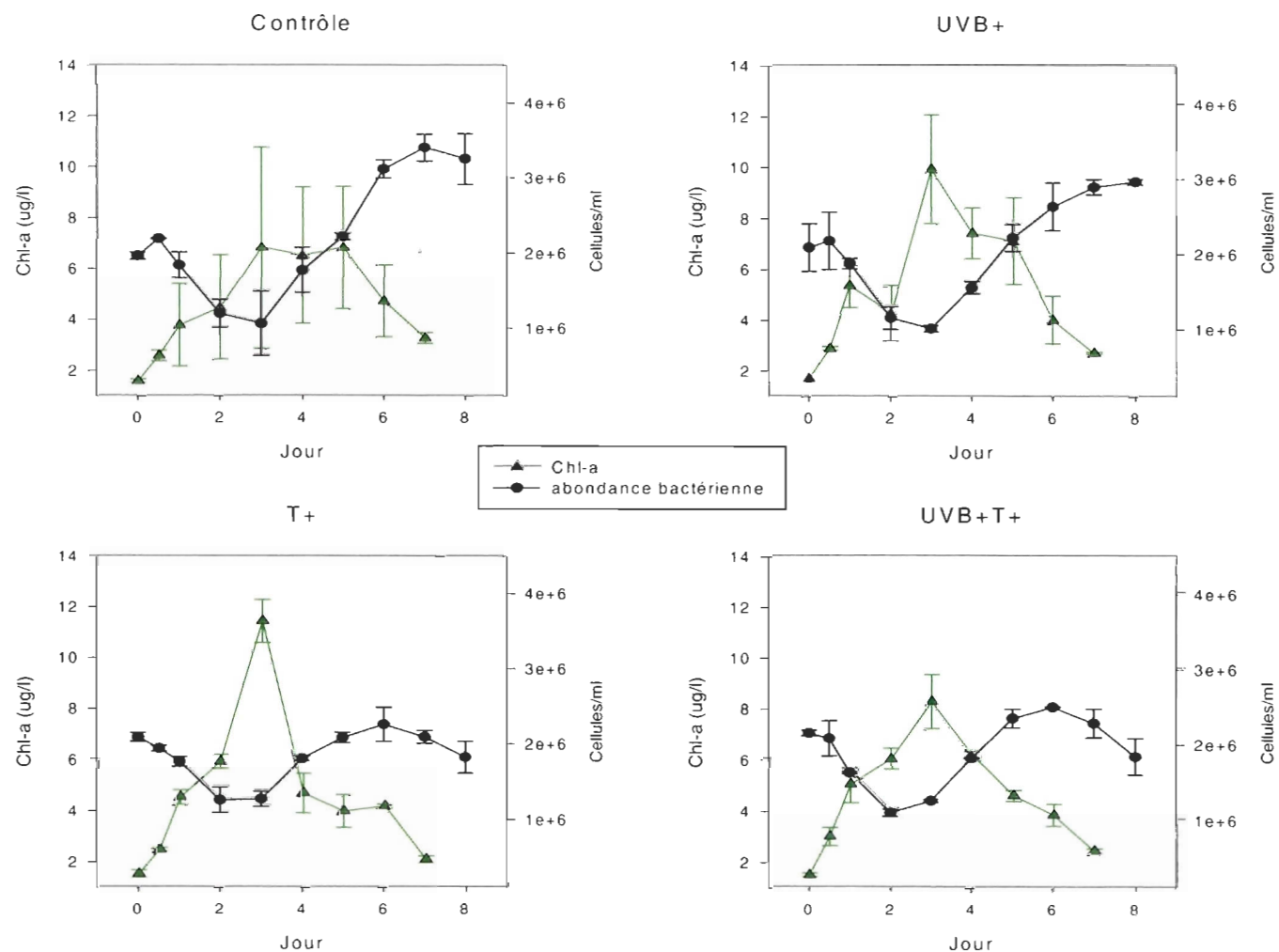


Figure 13 : Relations entre l'abondance bactérienne et la concentration en chl-a en fonction du temps pour le contrôle et les 3 traitements.

Tableau 7 : Coefficients de corrélations entre l'abondance bactérienne et le %HNA et les différentes variables mesurés pour a) le contrôle, b) UVB+, c) T+ et d) UVB+T+. Les valeurs marquées d'un * ont été obtenues par un test de corrélation de Spearman tandis que les autres ont été obtenues par un test de corrélation de Pearson. Les corrélations significatives apparaissent en caractère gras.

a)		Temps	NO ₃ +NO ₂	Chl-a	Abondance phytoplancton	%nanophytoplancton	%HNA
	Abondance bactérienne	0,730	-0,702	-0,274	0,542	0,243	0,785
	%HNA	0,912	-0,778	0,322	0,717	0,733	-
b)		Temps	NO ₃ +NO ₂	Chl-a	Abondance phytoplancton	%nanophytoplancton	%HNA
	Abondance bactérienne	0,605	-0,451	-0,614	0,235	-0,416	0,744
	%HNA	0,863	-0,838	0,014	0,545	0,265	-
c)		Temps	NO ₃ +NO ₂	Chl-a	Abondance phytoplancton	%nanophytoplancton	%HNA
	Abondance bactérienne	0,276	-0,408	-0,778	0,148	-0,699	0,624*
	%HNA	0,842*	-0,851	0,114	0,855*	0,200*	-
d)		Temps	NO ₃ +NO ₂	Chl-a	Abondance phytoplancton	%nanophytoplancton	%HNA
	Abondance bactérienne	0,339	-0,524	-0,736	0,083	-0,263	0,721*
	%HNA	0,721*	-0,876	0,121	0,515*	0,358*	-

Pour le contrôle, des corrélations positives et significatives ont été mesurées entre l'abondance bactérienne, le temps et le %HNA ainsi qu'entre le %HNA, le temps, l'abondance phytoplanctonique et le pourcentage de nanophytoplancton (tableau 7a). Une corrélation négative significative a été mesurée entre l'abondance bactérienne et la concentration en nitrite et nitrate. Pour le traitement UVB+, des corrélations positives significatives ont été mesurées entre l'abondance bactérienne et le %HNA et entre le

%HNA et le temps (tableau 7b). Des corrélations positives significatives ont été obtenues entre le %HNA, le temps et l'abondance phytoplanctonique pour le traitement T⁺ et une corrélation négative significative a été mesurée entre l'abondance bactérienne et la chl-a (tableau 7c). Aucune corrélation positive significative n'a été mesurée pour le traitement UVB+T⁺ mais une corrélation négative significative a été obtenue entre l'abondance bactérienne et la chl-a (tableau 7d). Finalement, une corrélation négative et significative a été mesurée entre le %HNA et la concentration en nitrite et nitrate pour le contrôle et les trois traitements.

3.2.2 Diversité bactérienne

En raison des variations d'abondances bactériennes mesurées par cytométrie en flux au cours de l'expérience en mésocosme (figure 11), les échantillons ciblés pour les analyses de diversité bactérienne ont été ceux des jours 0, 2, 6 et 8. Le jour 0 correspond aux conditions initiales dans les mésocosmes et le jour 2 coïncide avec la période de croissance du phytoplancton lors du bloom. Les jours 6 et 8 correspondent à la période de post-bloom phytoplanctonique. Les empreintes de DGGE pour les huit mésocosmes aux jours 0, 2, 6 et 8 sont représentées aux figures 14 et 15. Le nombre de bandes observé sur les profils de DGGE pour les différents mésocosmes et pour les 4 jours étudiés a varié entre 9 et 23. La plus grande variation du nombre de bandes entre les mésocosmes a été mesurée au jour 0. Le nombre de bandes observé pour le contrôle et les trois traitements en fonction du temps est illustré à la figure 16. Pour les deux mésocosmes contrôle, la diversité bactérienne

(nombre de bandes) a augmenté entre les jours 0 et 2 puis elle a diminué jusqu'à la fin de l'expérience. La chute de la diversité bactérienne a été plus drastique dans le contrôle 1. La diversité bactérienne dans les deux mésocosmes UVB+ a diminué entre les jours 0 et 2 et entre les jours 6 et 8. Elle est demeurée stable entre les jours 2 et 6 pour le mésocosme UVB+(2) et elle a augmenté pour le mésocosme UVB+(1) lors de cette même période. La diversité bactérienne a évolué différemment dans les deux réplicats du traitement T+. La diversité bactérienne dans le mésocosme T+(1) a augmenté entre les jours 0 et 2, diminué entre les jours 2 et 6 et elle a augmenté à nouveau entre les jours 6 et 8. La diversité bactérienne dans le mésocosme T+(2) a diminué entre les jours 0 et 6 puis elle est demeurée stable entre les jours 6 et 8. Finalement, la diversité bactérienne a évolué de manière similaire dans les deux réplicats du traitement UVB+T+. Pour ces deux mésocosmes, la diversité bactérienne a diminué entre les jours 0 et 6 et elle a augmenté entre les jours 6 et 8.

L'analyse multidimensionnelle (MDS) des patrons de DGGE démontre une homogénéisation de la diversité bactérienne entre les mésocosmes avec le temps (figure 17). En fait, la MDS montre que les échantillons se rapprochent de plus en plus dans l'espace avec le temps. Cette constatation est également observable sur les empreintes de DGGE (figures 14 et 15) en comparant le jour 0 au jour 8. Au jour 0, la diversité bactérienne était très différente entre les mésocosmes et au jour 8 elle est devenue davantage similaire. L'analyse multidimensionnelle montre aucun effet du traitement sur la diversité bactérienne puisque la répartition des échantillons dans l'espace pour un temps

donné est plutôt aléatoire. La figure 17 illustre également une différence notable de la diversité bactérienne entre les échantillons du jour 0 et les échantillons du jour 2 et entre ceux du jour 2 et du jour 6 puisque ces groupes d'échantillons sont éloignés dans l'espace. Par contre, la diversité bactérienne dans les mésocosmes au jour 6 était similaire à celle mesurée dans les mésocosmes au jour 8 puisque les deux groupes d'échantillons sont rapprochés dans l'espace.

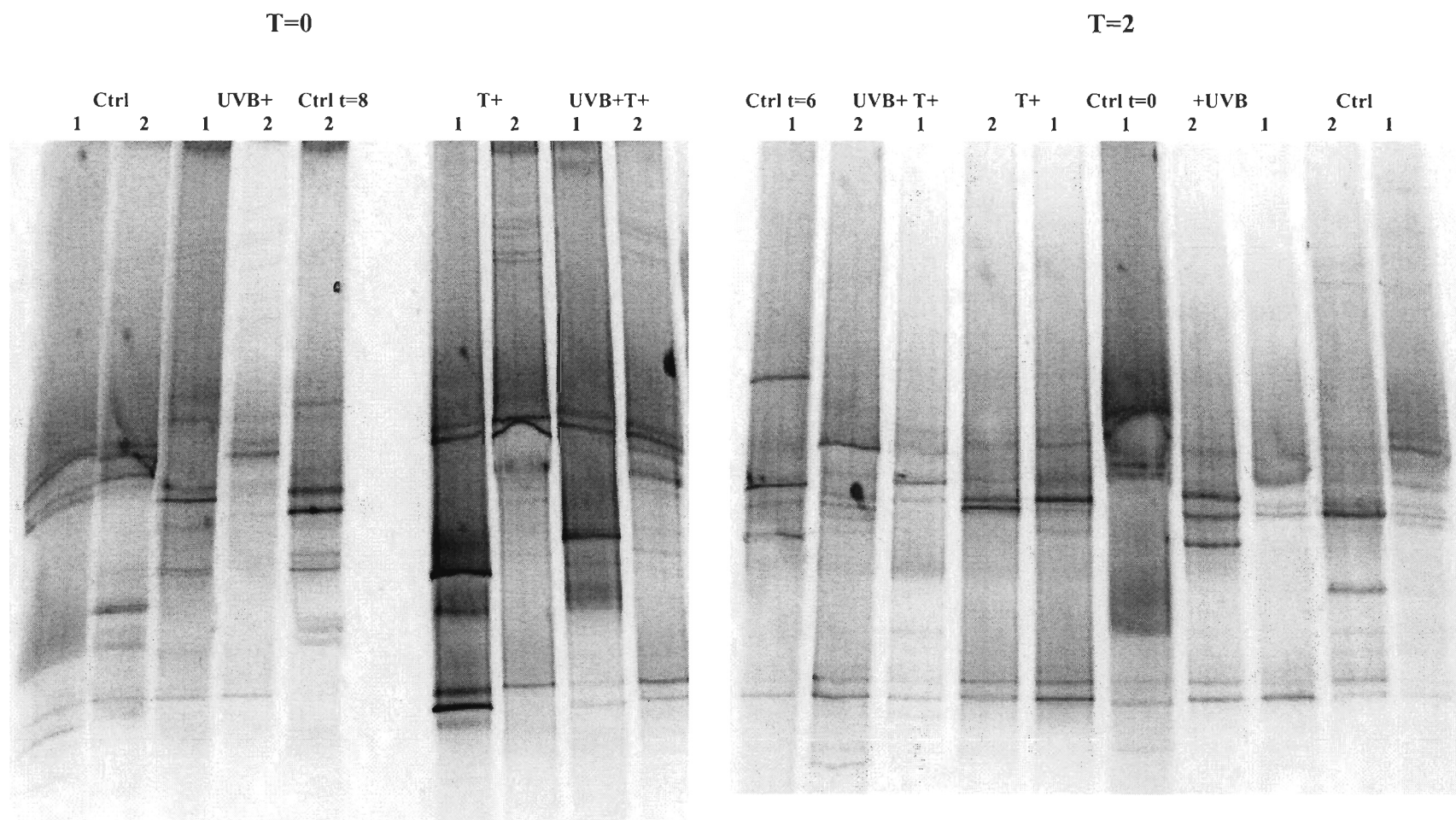


Figure 14 : Empreintes DGGE obtenues pour les différents traitements pour les jours 0 et 2. Des témoins contrôles des jours 6 et 8 ont été ajoutés afin de faciliter la comparaison entre les gels.

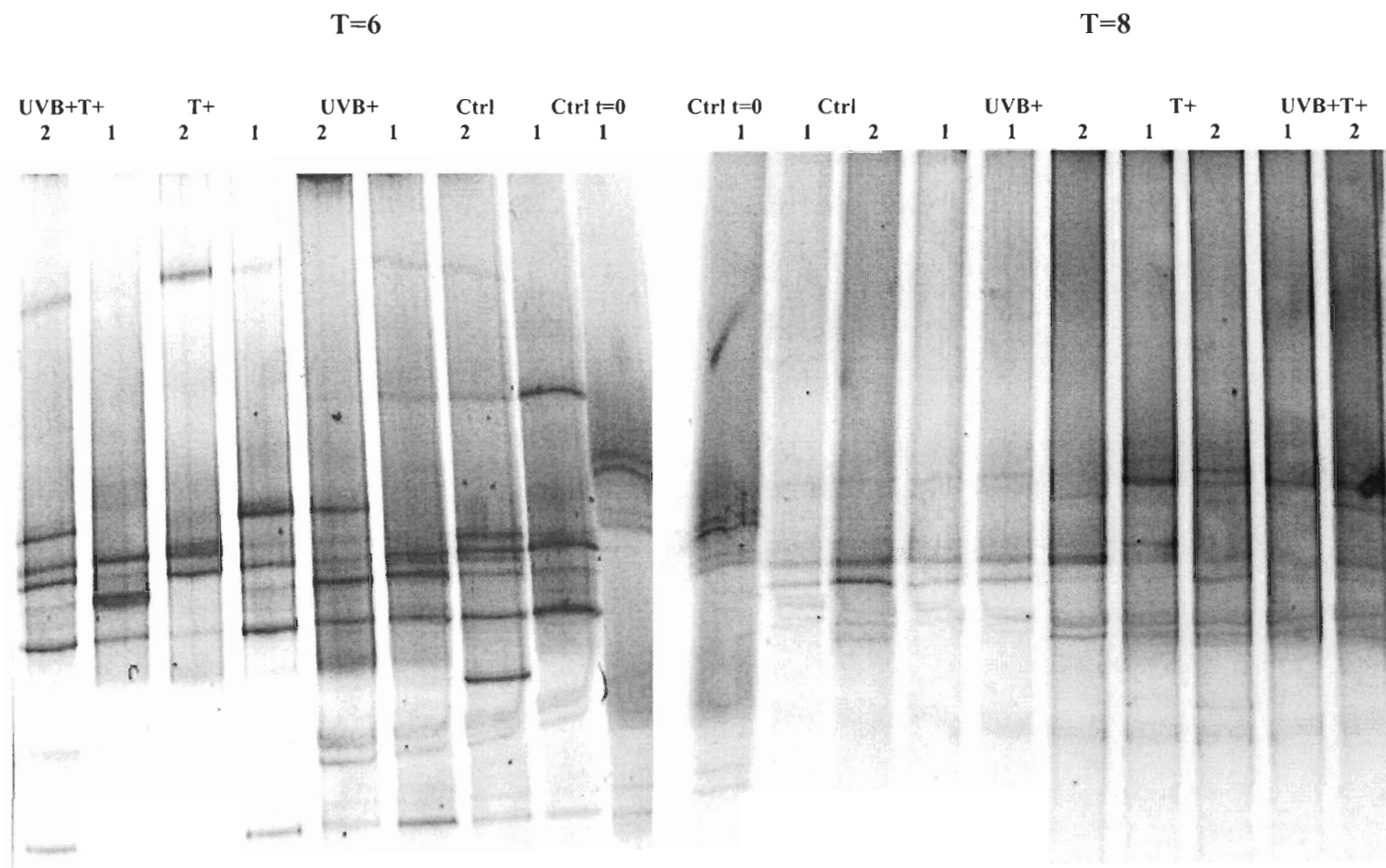


Figure 15 : Empreintes DGGE pour les jours 6 et 8. Un témoin contrôle du jour 0 a été ajouté à chaque gel (T6 et T8) afin de faciliter la comparaison entre les gels.

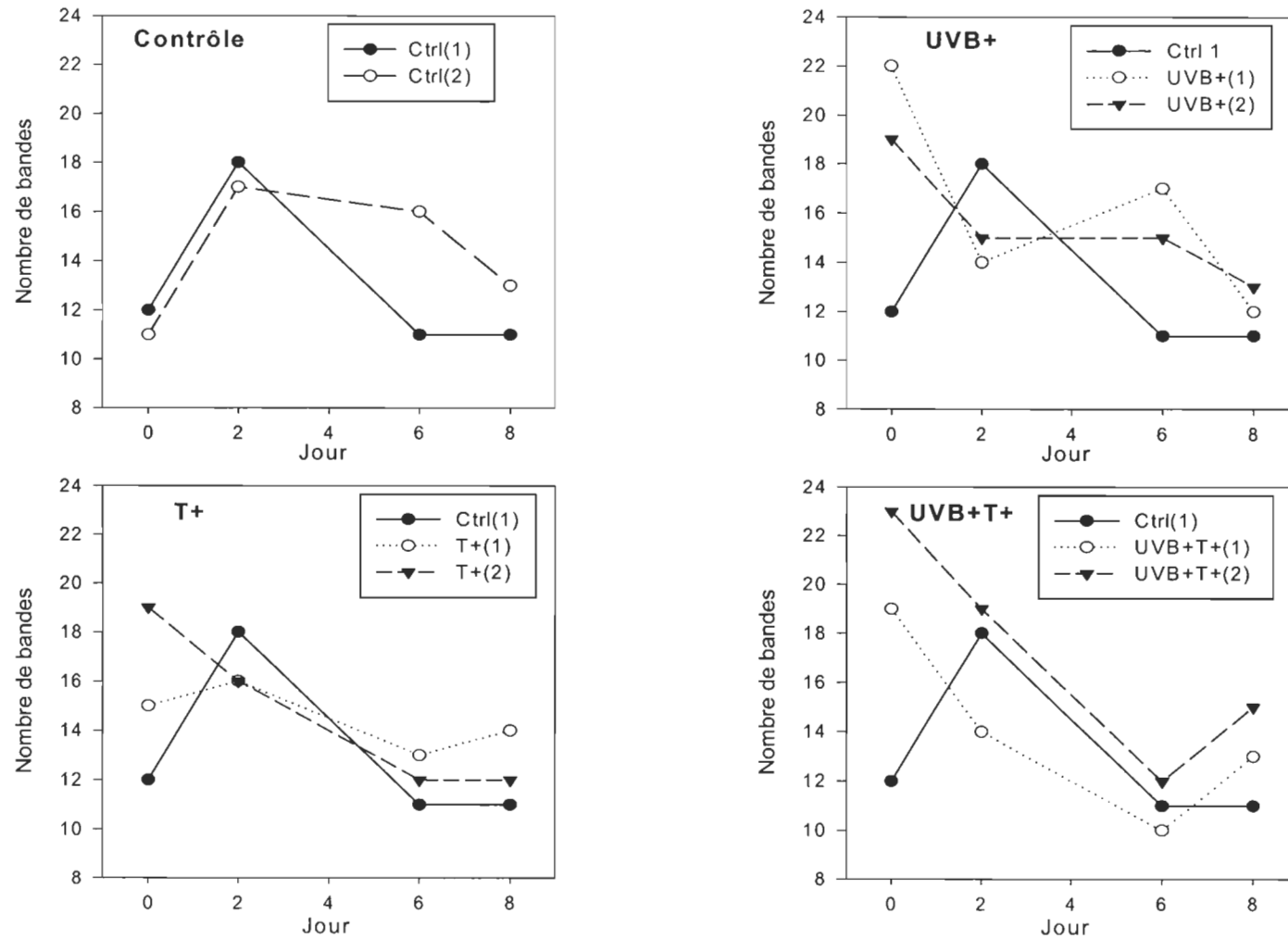


Figure 16 : Nombre de bandes observées sur les empreintes de DGGE en fonction du temps pour les huit (8) mésocosmes.

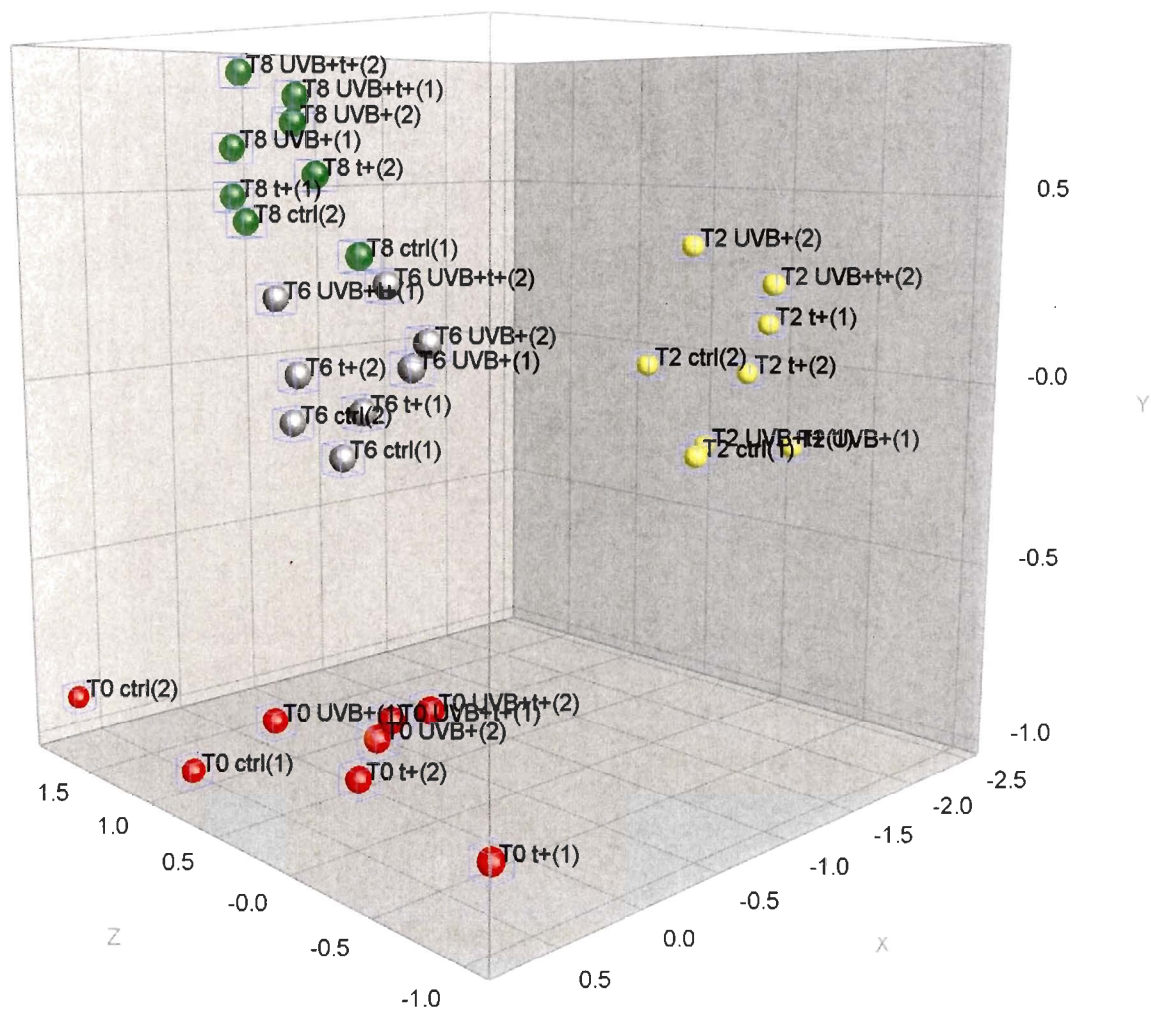


Figure 17 : Résultats de l'analyse multidimensionnelle (MDS) pour les échantillons analysés en DGGE. Une couleur différente a été attribuée aux échantillons selon le jour de l'expérience (T0 ; rouge, T2 ; jaune, T6 ; gris, T8 ; vert).

4.DISCUSSION

4.1 Évolution de l'abondance et de la diversité du bactérioplancton dans les eaux de la PA au cours de l'automne, de l'hiver et du printemps austral 2008.

Les abondances bactériennes mesurées durant l'ensemble de la période d'étude sont du même ordre de grandeur que celles rapportées par d'autres études réalisées dans les eaux australes au cours de la période estivale (Grossmann 1994, Delille et Rosiers 1996, Bird et Karl 1999, Pedrós-Alió *et al.* 2002, Church *et al.* 2003, Corzo *et al.* 2005, Sala *et al.* 2005, Topping *et al.* 2006) ainsi que durant la période comprise entre la fin de l'hiver et l'automne australe (Murray *et al.* 1998). Parmi ces travaux, Murray *et al.* (1998) ont mesuré en 1995-1996 des abondances bactériennes entre $1,0$ et $2,2 \times 10^5$ bactéries/ml en fin d'hiver et au début du printemps dans les eaux côtières de l'île Anvers, île située dans la région de la Péninsule Antarctique, à proximité de notre site d'étude. Plus récemment, Topping *et al.* (2006) ont mesuré une valeur d'abondance bactérienne moyenne de 3×10^5 cellules/ml au large de la Péninsule Antarctique au cours de l'été austral tandis que Corzo *et al.* (2005) ont rapporté des valeurs d'abondance bactérienne se situant entre $0,78$ et $9,4 \times 10^5$ cellules/ml dans le passage de Drake et de Bransfield et dans le détroit de Gerlache.

Les HNA ont dominé la communauté microbienne dans notre étude tout au long de la période d'échantillonnage avec un %HNA variant entre 53 et 74%. Cette dominance des HNA a également été rapportée dans plusieurs secteurs de l'océan austral par Christaki *et al.* (2008) et Corzo *et al.* (2005). La diversité bactérienne était très élevée (52 bandes en

moyenne par échantillon) dans les eaux de la PA au cours de l'automne, de l'hiver et du printemps austral 2006 en comparant avec des études réalisées dans d'autres régions et d'autres systèmes aquatiques et utilisant la même technique d'empreinte génétique (Lindström 1998, Konopka *et al.* 1999, Schäfer *et al.* 2000, 2001, Troussellier *et al.* 2002, Castle and Kirchman 2004). Le nombre de bandes dans la présente étude était aussi élevé que celui mesuré par Celussi et Cataletto (2007) lors de leur échantillonnage mensuel dans les eaux côtières du golf de Trieste, situées au nord-est de la mer Adriatique au cours de l'année 2003. L'étude réalisée par Murray *et al.* (1998) dans les eaux côtières de l'île Anvers, similaire à notre présente étude, a également mis en évidence des nombres totaux de bandes par échantillon inférieurs (8 à 32 bandes) dans la région de la Péninsule Antarctique à la fin de l'hiver austral et au début du printemps au cours des années 1995-1996.

Les résultats obtenus pour l'ensemble des profondeurs échantillonnées révèlent seulement de faibles variations saisonnières de la structure de la communauté bactérienne. L'abondance bactérienne moyenne était environ $0,4 \times 10^5$ cellules/ml inférieure en hiver comparativement à l'automne et au printemps. La diminution de l'abondance bactérienne en hiver est considérée comme très faible et semble être reliée à une diminution de l'abondance phytoplanctonique et à une diminution de la température de l'eau, ces deux facteurs ayant été identifiés comme étant les deux facteurs expliquant le plus la variation de l'abondance bactérienne. Le phytoplancton constitue la source principale du carbone organique utilisé par les bactéries (Thyssen 2002), ainsi, une diminution de l'abondance

phytoplanctonique peut être la cause d'une diminution de l'abondance bactérienne dans la colonne d'eau. Il s'agit là d'une possible régulation bottom-up dans laquelle les organismes d'un niveau trophique inférieur (dans ce cas le phytoplancton) limitent l'abondance des organismes du niveau trophique supérieur (les bactéries hétérotrophes). La diminution de la température moyenne de l'eau d'environ 1°C qui est survenue lors du passage de l'automne à l'hiver austral a probablement aussi contribué à la diminution de l'abondance bactérienne. En effet, Pedrós-Alió *et al.* (2002) ont montré qu'une diminution de température entraînait une diminution d'activité (taux d'incorporation de leucine) chez des procaryotes récoltés dans trois régions de l'océan austral. Même si les variations annuelles de température sont faibles dans les eaux Antarctiques, ces auteurs ont démontré que l'activité des procaryotes peut être grandement affectée par des petits changements de température. Aucune mesure directe d'activité bactérienne n'est disponible dans la présente étude afin de vérifier cette hypothèse. Il est cependant probable qu'une diminution de l'activité bactérienne ait engendré un ralentissement de la division cellulaire, ce qui se serait reflété par une diminution de l'abondance bactérienne. La diminution de l'abondance bactérienne en hiver dans la colonne d'eau était probablement le résultat d'une combinaison de basses températures de l'eau et de faibles concentrations en matière organique dissoute. Pomeroy et ses collaborateurs (Pomeroy *et al.* 1991, Wiebe *et al.* 1992, 1993) ont montré que dans les eaux froides, l'activité bactérienne pourrait être sévèrement limitée lors des températures annuelles les plus basses dans un système donné en absence de concentration suffisante de matière organique dissoute disponible. Lorsque la matière organique dépasserait certaines concentrations limites, la température ne serait plus un facteur limitant

(Wiebe *et al.* 1993). À l'arrivée du printemps austral, l'abondance bactérienne a augmenté et cette augmentation coïncidait avec une augmentation de la température de l'eau et une augmentation de l'abondance phytoplanctonique. Étonnamment, la composition du petit phytoplancton n'était pas un facteur déterminant pour l'abondance bactérienne dans les eaux de la PA au cours de la période d'échantillonnage puisque le modèle de régression linéaire n'a pas fait ressortir le %nanophytoplancton comme un facteur explicatif important et la corrélation mesurée entre le %nanophytoplancton et l'abondance bactérienne n'était pas significative. Un effet plus important de la composition du phytoplancton sur l'abondance bactérienne était attendue puisque le nanophytoplancton relâche une plus grande quantité de matière organique dans le milieu que le picophytoplancton (Laanbroek *et al.* 1985). La faible réponse de l'abondance bactérienne à la composition du phytoplancton était probablement due au fait que l'effet de ce facteur était atténué par d'autres facteurs plus importants (abondance phytoplanctonique et température). Les résultats suggèrent que la quantité de matière organique dissoute relâchée dans le milieu par le phytoplancton dépendait davantage de son abondance que de sa composition. Par ailleurs, aucune relation entre l'abondance bactérienne et le %HNA n'a été observée au cours de cette étude et le %HNA a augmenté en hiver contrairement à l'abondance bactérienne indiquant que ces deux paramètres étaient régulés par des facteurs différents. Corzo *et al.* (2005) ont également mis en évidence l'absence de relation entre l'abondance bactérienne et le %HNA dans les eaux australes au cours de la saison estivale. Selon ces auteurs, le %HNA serait fortement affecté par le taux de prédation, les protistes broutant préférentiellement les HNA par rapport au LNA (Gasol *et al.* 1995, del Giorgio *et al.*

1996). Le %HNA moyen a augmenté de 8 % de l'automne à l'hiver et il a diminué de 2 % entre l'hiver et le printemps dans la présente étude. L'hypothèse la plus plausible pour expliquer le %HNA plus élevé en hiver est la diminution du nombre de prédateurs à cette période. Leakey et al. (1994) ont mesuré une diminution importante de l'abondance et de la taille relative des protistes en hiver dans les eaux antarctiques. Dans la présente étude, l'abondance moyenne du microzooplancton dans la couche correspondant au maximum de chlorophylle a était environ deux fois plus élevée au printemps comparativement à l'automne et à l'hiver (S. Moreau, comm. pers.), ce qui contribue à soutenir cette hypothèse. Les matrices de similitude utilisant l'indice de Jaccard montrent des changements temporels lents et graduels de la diversité bactérienne pour la couche photique et aphotique au cours de la période d'échantillonnage. Crump *et al.* (2003) ont énoncé comme hypothèse que dans les systèmes oligotrophes, les changements dans la communauté bactérienne surviennent lentement étant donné le faible taux de croissance des microorganismes. Les températures froides des eaux de la PA contribuent probablement aussi à maintenir un taux de croissance peu élevé pour les microorganismes. L'étude des empreintes génétiques montre que les UTOs dominantes ont persisté tout au long de la période d'échantillonnage et que les changements temporels observés se situent au niveau d'UTOs secondaires qui sont apparues et disparues. La présence de populations microbiennes persistantes toute l'année et de populations transitoires a également été observée dans le lac Toolik en Alaska (Crump *et al.* 2003). Les résultats démontrent que les UTOs dominantes sont adaptées aux conditions des eaux antarctiques et que la présence de certaines UTOs secondaires correspondrait à des UTOs moins adaptées. La présence de

prédispositions physiologiques et une tolérance nutritionnelles des bactéries dominantes auraient tendance à maintenir les communautés stables dans le temps (Pinhassi et Hagström 2000). Pour ce qui est des UTOs secondaires, leur présence dans le milieu peut être influencée par plusieurs paramètres environnementaux. Des études en laboratoire et en mésocosmes ont démontré que des changements dans la lyse viral, la pression de broutage (Simek *et al.* 1999, Van Hannen *et al.* 1999a), les éléments nutritifs (Schäfer et Muyzer 2001), la composition de la matière organique (Massana *et al.* 2001) et dans la composition du phytoplancton (Van Hannen *et al.* 1999b) engendrent des changements dans la composition des communautés microbiennes. Bouvier et del Giorgio (2002) ont également mesuré des corrélations entre la structure de la communauté bactérienne et la salinité. La stabilité de l'abondance bactérienne et des UTOs dominantes tout au long de la période d'étude font état d'une communauté bactérienne très bien adaptée aux conditions antarctiques et capables de s'ajuster aux modifications dans la disponibilité de la matière organique. La stabilité de la communauté bactérienne et la dominance du phytoplancton de petite taille (*i.e.* picophytoplancton et nanophytoplancton) au niveau de la communauté phytoplanctonique (S. Moreau, comm. pers.) démontrent la présence d'un réseau trophique microbien dans la colonne d'eau des eaux de la PA durant l'ensemble de la période d'étude. Ceci est signe d'un réseau peu productif comparativement à un réseau trophique de type herbivore dominé par des cellules phytoplanctoniques de grande taille (e.g. diatomées) et très productif classiquement observé lors des périodes de floraisons phytoplanctoniques.

Des différences au niveau de la structure de la communauté ont été mesurées entre la couche photique et la couche aphotique. L'abondance bactérienne diminuait significativement avec la profondeur ($r = -0,467$) et cette diminution était similaire à ce qui a été mesuré par Topping *et al.* (2006) et Corzo *et al.* (2005) dans les eaux australes. Cette diminution était probablement due aux régulations bottom-up (phytoplancton) et top-down, incluant la lyse virale, qui ont été suggérées comme étant des facteurs de contrôle d'abondance des procaryotes hétérotrophes dans l'océan austral (Boyd 2000, Morán *et al.* 2002, Pedrós-Alió *et al.* 2002, Vaqué *et al.* 2002). Les virus et les protistes brouteurs ont été identifiés comme étant les principaux organismes responsables de la régulation top-down, c'est-à-dire des organismes d'un niveau trophique supérieur qui limitent les organismes d'un niveau trophique inférieur (dans ce cas les bactéries hétérotrophes) par la prédation. Par contre, il est impossible d'évaluer la contribution de ces organismes à la diminution de l'abondance bactérienne avec la profondeur dans le cadre de la présente étude puisque les virus n'ont pas été étudiés et le suivi des protistes a été réalisé à une seule profondeur. Au printemps, l'abondance bactérienne dans la couche photique était significativement supérieure comparativement à la couche aphotique probablement à cause de la croissance de la communauté phytoplanctonique dans cette couche favorisée par l'augmentation printanière de la lumière (annexe 1 ; figure A1.1). L'abondance bactérienne était plus stable dans le temps dans la couche aphotique comparativement à la couche photique. En fait, la diminution de l'abondance bactérienne en hiver était significative dans la couche photique mais non dans la couche aphotique. Ce phénomène peut-être expliqué par une diminution plus marquée de la température de l'eau et de l'abondance

phytoplanctonique entre l'automne et le milieu de l'hiver dans la couche photique. Cette couche était davantage affectée par les variations saisonnières des paramètres environnementaux, telles la lumière, la température de l'air et la présence de glace. Le %HNA augmentait significativement avec la profondeur ($r = 0,320$) et cette observation est discutée à la page 73. Par contre, la variation saisonnière du %HNA était similaire pour les deux couches avec une augmentation significative de l'automne à l'hiver. Les facteurs régulant le %HNA, tel la prédation, étaient probablement les mêmes dans les deux couches. La diversité bactérienne (nombre de bandes DGGE) était plus élevée dans la couche photique par rapport à la couche aphotique durant l'automne et l'hiver austral. Au printemps, la diversité bactérienne était plus élevée dans la couche aphotique que dans la couche photique. La diversité bactérienne a évolué différemment avec le temps entre les deux couches suggérant que les facteurs régulant la diversité bactérienne étaient différents entre les deux couches. En raison de notre protocole d'échantillonnage sous forme de station fixe, les masses d'eau sont considérées comme étant statiques dans l'ensemble de la période étudiées. Toutefois, les différences observées dans la communauté bactérienne entre la couche photique et la couche aphotique pourraient être le résultat d'une évolution différente dans le temps des masses d'eau de ces deux couches mais les données disponibles ne permettent pas de tester cette hypothèse. Dans la couche photique, la diversité bactérienne a augmenté de l'automne au milieu de l'hiver puis elle a diminué à la fin de l'hiver et au début du printemps. Murray *et al.* (1998) ont observé une tendance similaire en surface dans les eaux côtières de la Péninsule Antarctique. Ils ont mesuré une diminution de la diversité bactérienne entre le début du printemps et l'été austral et une

augmentation de la diversité entre l'été et l'automne austral. Selon les auteurs, il s'agirait probablement d'une réponse du bactérioplancton à la qualité et à la quantité de la matière organique dissoute qui varieraient temporellement dans l'environnement antarctique en fonction des successions des assemblages phytoplanctoniques. Cependant, aucune corrélation significative n'a été mesurée dans la présente étude entre la diversité bactérienne et l'abondance du phytoplancton et sa composition (%nanophytoplancton) dans la couche photique. La diversité bactérienne dans la couche photique semblait être régulée principalement par des facteurs physiques, tels la température, les RUVB et les RUVA qui étaient corrélée négativement avec la diversité bactérienne. Il est possible que le réchauffement de l'eau ait favorisé certaines UTOs mieux adaptées à utiliser les ressources au détriment d'UTOs secondaires. La forte corrélation négative mesurée entre la diversité bactérienne et les RUV est principalement due aux trois derniers jours d'échantillonnage. Le nombre de bandes dans la couche photique a diminué de 52 à 38 entre les jours juliens 303 et 314 alors que l'intensité incidente des RUVB et des RUVA a augmenté respectivement de 2,4 à 14,5 $\mu\text{W}/\text{cm}^2\cdot\text{nm}$ et de 4,9 à 34,0 $\mu\text{W}/\text{cm}^2\cdot\text{nm}$ (données du PUV). Entre ces deux mêmes journées, l'abondance bactérienne et le %HNA ont diminué respectivement de $0,5 \times 10^5$ cellules/ml et de 10%. L'abondance phytoplanctonique dans la couche photique a également diminué de 4790 à 2097 cellules/ml entre les jours 306 et 314. Les résultats suggèrent des effets négatifs directs ou indirects des RUVB et/ou des RUVA sur les communautés bactériennes entre les jours 303 et 314. Par contre, il est impossible de déterminer si les RUVB ont eu des effets plus importants que les RUVA sur le bactérioplancton lors de cette période puisque l'augmentation de ces deux types de

radiations était aussi élevée entre les jours 303 et 314 ce qui s'est reflété par un rapport UVB/UVA stable entre ces journées (annexe 1 ; figure A1.2). Pour tester plus adéquatement les effets individuels directs et indirects des RUVB sur le bactérioplancton, il aurait fallu avoir plus de points d'échantillonnage dans la période du maximum du trou dans la couche d'ozone (jours 260 à 282). Les effets individuels des RUVB sur les communautés microbiennes de basses latitudes ont été testés lors de l'expérience en mésocosmes et les résultats sont discutés à la section 4.2. Dans la couche aphotique, la diversité bactérienne a diminué de l'automne au milieu de l'hiver et elle a augmenté en milieu d'hiver jusqu'à dépasser la diversité génétique mesurée en surface au printemps. La température était plus stable dans cette couche et les RUV étaient nulles. La diversité bactérienne suivait donc davantage l'évolution des communautés phytoplanctoniques (chl-a, abondance du phytoplancton et % nanophytoplancton) comparativement à la couche photique. Par contre, la seule variable corrélée significativement avec la diversité bactérienne dans cette couche était la chl-a. La chl-a et la température sont d'ailleurs les deux facteurs ayant été identifiés comme expliquant le mieux la variation temporelle de la diversité bactérienne dans la baie de Chesapeake, située sur la côte Est des États-Unis (Kan *et al.* 2006).

Une différence importante entre les couches photique et aphotique se situe au niveau de la quantité d'ADN nécessaire pour l'amplification du gène ADNr 16S. Pour la couche photique, 200 ng d'ADN extrait était nécessaire pour obtenir suffisamment d'amplicons pour la DGGE tandis que pour la couche aphotique, il fallait utiliser une quantité deux fois

plus grande d'ADN. Ceci peut être dû à un biais de la méthode utilisée. En fait, les amorces utilisées pour la PCR (907-r et 341-f) ciblent préférentiellement les eubactéries et ne parviennent pas à amplifier le gène ADNr 16S présent chez les Archaea. D'autres types d'amorces doivent être utilisés en plus des amorces pour les eubactéries afin d'inclure les Archaea dans l'étude de la diversité des communautés bactériennes par PCR-DGGE (Murray *et al.* 1998, Röling *et al.* 2001, Galand *et al.* 2006). Les Archaea n'ont pas été initialement incluses dans la présente étude du bactérioplancton antarctique à cause de contraintes de temps et d'argent toutefois ces analyses pourront être effectuées ultérieurement à partir des ADN extraits. En effet, des études ont démontré que les Archaea étaient une composante dynamique et significative du bactérioplancton dans les eaux de la PA (DeLong *et al.* 1994, Murray *et al.* 1998, Church *et al.* 2003). Ces études ont également révélé une augmentation des archéobactéries dans la colonne d'eau au cours de l'hiver austral. Church *et al.* (2003) ont mesuré une augmentation significative des Archaea avec la profondeur, ces organismes comptant jusqu'à 39 % de l'abondance totale du picoplancton dans les eaux profondes (150 à 3500 m) à l'ouest de la PA. Dans le présent travail, la nécessité d'utiliser une plus grande quantité d'ADN pour l'amplification du gène ADNr 16S dans les échantillons de la couche aphotique laisse supposer une plus grande abondance des Archaea dans cette couche comparativement à la couche photique. Il est probable que la proportion d'ADN des Archaea par rapport à l'ADN des protéobactéries était plus grande dans la couche aphotique d'où la nécessité d'utiliser une plus grande quantité d'ADN total extrait pour une amplification efficace dans la couche photique. La diversité bactérienne a été sous-estimée dans cette étude non seulement en raison de

l'exclusion des Archaea mais aussi à cause d'une limite propre à la méthode de PCR-DGGE ne permettant pas de mettre en évidence des UTOs dont l'abondance relative est inférieure à 1% (Muyzer *et al.* 1993, Fromin *et al.* 2002). Il est donc possible que des variations saisonnières de la diversité bactérienne n'aient pas été révélées avec la technique utilisée. Une autre contrainte de la méthode PCR-DGGE est qu'il n'est pas possible d'affirmer qu'une bande équivaut à une UTO distincte puisque deux séquences différentes du gène ADNr 16S peuvent migrer au même endroit selon leur composition en base azoté (Van Hannen *et al.* 1998, Sekiguchi *et al.* 2001). Réciproquement, plusieurs bandes peuvent provenir de la même UTO et ceci peut être causé par une micro-hétérogénéité naturelle dans la séquence d'ADN (Speksnijder *et al.* 2001). Par contre, la PCR-DGGE a permis de relever des diminutions et des augmentations de la diversité bactérienne entre les échantillons par la comparaison du nombre total de bandes et elle a permis de rendre compte de la persistance des UTOs d'eubactéries dominantes tout au long de la période d'étude.

Une observation très intéressante de cette étude est que le %HNA ne semble pas être un bon indicateur du niveau d'activité de la communauté microbienne dans les eaux de la PA au cours de l'automne, de l'hiver et du printemps austral. Bien que l'activité métabolique bactérienne n'ait pas été mesurée, certains éléments portent à croire que les LNA étaient une composante active du bactérioplancton au cours de la période d'étude. Premièrement, aucune corrélation n'a été mesurée entre la taille relative des HNA et des LNA avec la profondeur ce qui n'est pas cohérent avec les observations de Corzo *et al.*

(2005). Ces auteurs ont noté une diminution significative de la taille relative des HNA avec la profondeur au cours de l'été austral dans les eaux antarctiques et cette relation n'a pas été observée pour les LNA. Selon Corzo *et al.* (2005), il s'agissait d'un élément en faveur de l'hypothèse stipulant que les HNA constitueraient la seule composante active du bactérioplancton puisque seulement les caractéristiques de ce groupe suivent la concentration en chl-a. D'autre part, les études tendent à démontrer une diminution du %HNA avec la profondeur, causée par une diminution des cellules HNA (Thyssen 2002, Corzo *et al.* 2005, Morán *et al.* 2007). Par contre, le nombre de LNA serait constant avec la profondeur, supportant l'hypothèse que les LNA sont des bactéries mortes ou inactives (Morán *et al.* 2002, 2004, Tadonlélé *et al.* 2005, Morán *et al.* 2007). Dans la présente étude, une augmentation du %HNA avec la profondeur a été mesurée et cette augmentation était principalement reliée à la diminution plus importante du nombre de cellules LNA avec la profondeur que du nombre de cellules HNA. Les LNA étaient donc plus affectées par la profondeur que les HNA. C'est la première fois, à notre connaissance qu'une telle observation est faite. Corzo *et al.* (2005) ont également mesuré une augmentation du %HNA avec la profondeur dans l'océan austral au cours de l'été austral et ils ont posé comme hypothèse que ce serait dû à une diminution de la prédation avec la profondeur. Finalement, des études ont montré que le nombre de HNA est généralement plus variable, géographiquement et verticalement que celui des LNA, suggérant indirectement que les HNA sont les membres les plus dynamiques de la communauté microbienne (Li *et al.* 1995, Corzo *et al.* 2005, Calvo-Díaz et Morán 2006). Ce n'est pas ce qui a été observé dans le cadre de cette étude, le nombre de LNA ayant été légèrement plus variable que le nombre

de HNA (CV de 24 % par rapport à 20% pour les HNA). Une variation plus importante des LNA par rapport aux HNA a également été observée dans les eaux tempérées du nord de la péninsule ibérique (Morán *et al.* 2007). Ces observations laissent croire que les LNA auraient la possibilité de répondre aux fluctuations environnementales (Seymour *et al.* 2005, Sherr *et al.* 2006). La variabilité du nombre des cellules LNA dans les eaux de la PA au cours des trois saisons étudiées suggère que ce groupe est une composante dynamique du bactérioplancton dans les eaux de cette région. Cette observation va dans le même sens que les conclusions de Jochem *et al.* (2004), Longnecker *et al.* (2005) et de Scharek et Latasa (2007) qui suggèrent que les LNA peuvent faire partie intégrante du réseau microbien. Des études ont d'ailleurs démontré que les LNA seraient la composante du bactérioplancton la plus active dans certains écosystèmes oligotrophes (Zubkov *et al.* 2000, Jochem *et al.* 2004). Par ailleurs, Smith et del Giorgio (2003) ont proposé que les LNA auraient un métabolisme moins élevé que les HNA mais joueraient un plus grand rôle dans les processus hétérotrophes en milieux oligotrophes. Le rôle des HNA et des LNA dans l'écosystème varierait en fonction de la région et de la profondeur (Longnecker *et al.* 2006, Scharek et Latasa 2007). Certains auteurs ont proposé que les HNA et les LNA soient composées des mêmes UTOs (Servais *et al.* 2003, Longnecker *et al.* 2005) alors que d'autres ont suggéré que ces deux sous-populations étaient phylogénétiquement distinctes (Fuchs *et al.* 2000, Zubkov *et al.* 2001). Dans les eaux de la PA, les HNA et les LNA semblaient être composées des mêmes UTOs dominantes au cours de l'automne, de l'hiver et du printemps puisque les changements du %HNA n'étaient pas reliés à des changements de la diversité bactérienne. Par exemple, dans la couche aphotique, le %HNA est passé de

53 % à 74 % entre les jours juliens 170 et 223, mais l'indice de similitude de Jaccard entre ces deux jours est relativement élevé, soit 0,85. À l'opposé, une différence notable de la diversité génétique (indice de similitude de 0,62) a été mesurée entre les jours juliens 280 et 284 dans la couche aphotique alors que les %HNA pour ces deux jours étaient respectivement de 65 % et 66 %.

Dans la couche photique, le passage de l'hiver au printemps austral était marqué par une augmentation de la température de l'eau, une augmentation de l'abondance phytoplanctonique et une augmentation de l'exposition des organismes planctoniques aux RUV ainsi qu'aux radiations du PAR (annexe 1 ; figure A1.1). Ces facteurs semblent avoir engendré des modifications dans la structure de la communauté microbienne dans la couche photique. En fait, une augmentation significative de l'abondance bactérienne a été mesurée de l'hiver au printemps austral ainsi qu'une diminution du nombre de bandes DGGE de 57 à 38 du milieu de l'hiver (jour 224) à la dernière journée échantillonnée au printemps (jour 314). La contribution de chacun des facteurs énumérés ci-haut aux modifications observées dans la structure de la communauté microbienne n'a pas pu être déterminée en conditions naturelles. Par contre, l'expérience en mésocosme a permis de cibler les effets individuels et combinés d'une augmentation de température et d'une augmentation des RUVB sur la structure des communautés bactériennes sub-antarctiques en conditions contrôlées. De plus, la création de blooms phytoplanctoniques dans les mésocosmes a permis de reproduire une augmentation de l'abondance phytoplanctonique, phénomène observé lors du passage de l'hiver au printemps austral dans les eaux de la PA. Cependant, le bloom phytoplanctonique

dans les eaux de la PA s'est développé après la période d'échantillonnage, soit à la fin du printemps et au début de l'été austral (M. Vernet, comm. pers.).

4.2 Variations temporelles des communautés bactériennes dans les mésocosmes soumis aux différents traitements de RUVB et de température.

4.2.1 Effets individuels et combinés d'une hausse des RUVB et de la température sur l'abondance bactérienne et le %HNA.

Les valeurs d'abondance bactérienne mesurées dans les mésocosmes au cours de l'expérience sont élevées et elles sont comparables aux valeurs mesurées lors de d'autres expériences en mésocosme, réalisées sous de plus basses latitudes avec de l'eau de mer récoltée en milieu côtier ou estuarien (Riemann *et al.* 2000, Øvreås *et al.* 2003, Schwalbach *et al.* 2005). L'abondance bactérienne élevée peut être expliquée par le fait que l'eau a été récoltée en fin d'été austral, période correspondant au pic annuel d'abondance bactérienne dans les eaux sub-antarctiques (Delille *et al.* 1996, 2000). Delille *et al.* (2000) ont, entre autres, mesuré des abondances bactériennes variant entre 1 et 2×10^6 cellules/ml à la fin de l'été et au début de l'automne (février-mars-avril) en milieu sub-antarctique. De plus, la communauté bactérioplanctonique à l'embouchure de la baie d'Ushuaia est probablement affectée par un enrichissement en matière organique provenant des rejets de la ville d'Ushuaia. Le rejet d'eaux usées et l'apport d'eau douce ont en effet été identifiés comme deux facteurs importants affectant le mésozooplancton dans la baie d'Ushuaia (Fernández-Severini et Hoffmeyer 2005). Cependant, les valeurs initiales de DOC dans la totalité des mésocosmes étaient du même ordre de grandeur que les valeurs normalement mesurées en

milieu côtier ($\sim 1 \text{ mg/l} \pm 0,08$, Xiaomeng Wang, comm. pers.). Pour l'ensemble des mésocosmes, l'abondance bactérienne était plus élevée au jour 0 qu'au jour 2. Ceci pourrait être dû à la présence de bactéries d'origine terrigène au jour 0 qui n'auraient pas pu survivre aux conditions marines. Une diminution de l'abondance bactérienne dans les premiers jours d'expériences réalisées en mésocosmes a également été rapportée par Shiah et Ducklow (1995) et par Allgaier *et al.* (2008). Allgaier *et al.* (2008) ont expliqué l'abondance bactérienne élevée telle que mesurée après le remplissage des mésocosmes comparativement au jour suivant d'échantillonnage par l'addition d'eau douce dans la couche de surface des mésocosmes, la lyse d'organismes marins fragiles et le brassage important de l'eau (bullage). Dans la présente étude, la période s'étendant du jour 0 au jour 2 est considérée comme une période d'adaptation de la communauté bactérienne aux nouvelles conditions de stress amenées par le confinement en mésocosme. Les patrons d'abondance bactérienne obtenus pour les huit (8) mésocosmes du jour 2 au jour 8 sont typiques des expériences réalisées en mésocosme avec la création d'un bloom *in vitro* par un enrichissement en nutriments (Lebaron *et al.* 1999, Riemann *et al.* 2000, Allgaier *et al.* 2008). L'abondance bactérienne a augmenté rapidement après le bloom (entre les jours 2 et 6) en raison de la dégradation des cellules phytoplanctoniques qui aurait causé le relâchement de matière organique dissoute dans le milieu et ainsi favorisé la croissance de la population bactérienne. L'augmentation de l'abondance bactérienne qui est survenue entre les jours 2 et 6 coïncide avec une augmentation importante du %HNA. Ces résultats vont dans le même sens que l'hypothèse de Lebaron *et al.* (2002) qui stipule que le %HNA constituerait un bon indicateur du niveau d'activité de la communauté bactérienne. En

conditions contrôlées, l'utilisation du %HNA comme indicateur d'activité semble davantage appropriée probablement parce que le nombre de facteurs affectant le %HNA est plus limité. Du jour 6 au jour 8, l'abondance bactérienne s'est stabilisée ou elle a diminué légèrement dépendamment du traitement. Le ralentissement de la croissance de la population ou l'arrêt de la croissance observé dans les derniers jours de l'expérience dans les mésocosmes était probablement dû au contrôle par les prédateurs et par la lyse virale comme il a été démontré dans d'autres études en mésocosmes (Lebaron *et al.* 1999, Riemann *et al.* 2000, Trouselier *et al.* 2005). Par contre, les protistes brouteurs et les virus n'ont pas été mesurés dans la présente étude.

La hausse des RUVB n'a eu aucun effet sur l'abondance bactérienne et le %HNA. Les effets des RUVB sur les bactéries marines ne sont pas toujours évidents dans la littérature. Agogue *et al.* (2005b) ont testé la sensibilité aux RUVB de 90 souches bactériennes isolées de la couche de surface de la mer Méditerranée et leurs résultats ont montré que seulement 16 % des souches étaient sensibles aux RUVB. Winter *et al.* (2001) ont constaté que seulement 10% des souches bactériennes récoltées dans la couche de surface de la mer du Nord étaient sensibles aux UV (RUVB et RUVA). Selon certains auteurs, la réponse totale de la communauté bactérienne aux RUVB serait le résultat net des effets négatifs directs sur les bactéries elles-mêmes (modifications de l'ADN, énergie dépensée pour les mécanismes de réparation) et les effets positifs potentiels de la diminution de la prédation et la photodégradation de la matière organique récalcitrante (DOM) dues aux RUVB (Kaiser et Herndl 1997, Gustavson *et al.* 2000). Lors

d'expériences réalisées en conditions contrôlées, Gustavson *et al.* (2000) et Nunez *et al.* (2006) ont constaté aucun effet significatif des UVB sur l'abondance bactérienne totale, mais ils ont démontré un effet significatif des RUVB sur l'activité bactérienne (taux d'incorporation de leucine). Par contre, Ferreyra *et al.* (2006) ont mis en évidence des variations significatives dans l'abondance bactérienne dans une communauté isolée de l'estuaire du St-Laurent en utilisant un protocole expérimental de type mésocosme. Cependant, une réponse homogène pour l'activité spécifique a été observée entre les traitements. Ces résultats ont été expliqués par une diminution du broutage dans les conditions de RUVB augmentées, produit de la réduction dans la biomasse des ciliés. Dans notre étude, il est possible que les RUVB aient eu des effets sur les bactéries au niveau cellulaire, par exemple au niveau de l'activité bactérienne, mais il a été impossible de le constater puisque seulement des mesures au niveau de la communauté bactérienne ont été prises. Il est possible que les effets positifs des RUVB aient compensé pour les effets négatifs et que le résultat net au niveau de la communauté bactérienne ait été nul. Sargian *et al.* (2007) ont également testé les effets des UVB sur des communautés bactériennes récoltées dans la baie d'Ushuaia lors du printemps austral 2001. Ils n'ont pas mesuré d'effet significatif des RUVB sur l'abondance bactérienne totale, mais ils ont constaté une diminution significative des cellules HNA après exposition aux RUVB à la fin de l'expérience. Nous n'avons pas observé d'effet significatif des RUVB sur le nombre de cellules HNA ni sur le nombre de cellule LNA au cours de l'expérience (données non présentées). Par contre, l'expérience de Sargian *et al.* (2007) était réalisée en microcosme et les bactéries étaient probablement plus exposées aux RUVB étant donné la faible

profondeur des contenants comparativement à nos mésocosmes. Une hypothèse envisagée pour expliquer l'absence de réponse des communautés bactériennes sub-antarctiques à la hausse des RUVB dans les mésocosmes est qu'il s'agisse de communautés déjà bien adaptées à des hausses naturelles des RUVB. En fait, la région d'Ushuaia est soumise à une augmentation périodique des RUVB à la fin de l'hiver et au début du printemps étant donné que cette région est située à la limite nord du trou dans la couche d'ozone Antarctique (Pazmiño *et al.* 2005). L'expérience en mésocosme a été répétée à Rimouski à la station de Pointe-aux-Pères en août 2008 avec des communautés bactériennes non adaptées à des hausses de RUVB. Les résultats sont en cours d'analyse et il sera intéressant de voir si une hausse des RUVB a des effets sur les communautés bactériennes non adaptées.

Les effets de la température sur les communautés bactériennes en hautes latitudes ont été discutés à la section 4.1 (p.63). Nous nous attendions à ce qu'une augmentation de la température favorise la croissance bactérienne. Par contre, c'est le contraire qui a été observé, soit un effet négatif sur l'abondance bactérienne dans les mésocosmes à température augmentée vers la fin de l'expérience. Les effets négatifs de la hausse de température sur l'abondance bactérienne qui ont été observés dans les derniers jours de l'expérience étaient probablement des effets indirects. Le bloom de diatomés (mesuré par microscopie) était supérieur en nombre et en durée dans les mésocosmes à température normale comparativement aux mésocosmes à température augmentée (données non présentées). Il est donc possible que le relargage de matière organique dissoute lors du post-bloom ait été moins important dans les mésocosmes à température augmentée, ce qui

aurait résulté en des abondances bactériennes moins élevées à la fin de l'expérience dans ces mésocosmes comparativement aux mésocosmes à température normale. Les abondances bactériennes moins élevées qui ont été mesurées à la fin de l'expérience dans les mésocosmes à température augmentée pourraient également être le résultat d'un broutage plus intense des protistes sur les bactéries dans ces mésocosmes. Sherr *et al.* (1988) ont démontré que le taux de digestion augmentait exponentiellement entre 12 et 22°C chez un assemblage de plusieurs espèces de flagellés et chez une espèce de cilié récoltés dans la couche de surface de la mer Méditerranée. Le taux d'ingestion de bactéries par ces bactérivores était environ 3 fois plus élevé lorsqu'ils étaient incubés à 16 °C comparativement à 12 °C alors que l'abondance bactérienne était environ 2 fois plus élevée à 16 °C. Un taux de prédation plus élevé dans les mésocosmes à température augmentée aurait pu se refléter par une diminution du %HNA dans ces mésocosmes puisque les protistes broutent préférentiellement les HNA. Cependant, le %HNA ne différait pas significativement entre les traitements. Bien que la température dans les mésocosmes à température augmentée était supérieure aux températures maximales annuelles mesurées dans le canal Beagle, l'hypothèse la plus probable pour expliquer l'absence d'effet direct de la température sur les communautés bactériennes étudiées est qu'une augmentation de 3 °C sur seulement quelques jours dans un milieu où les communautés bactériennes sont adaptées à des fluctuations annuelles de température importantes n'était pas suffisante pour amener une modification du métabolisme des bactéries. Au point de départ, cette expérience devait être réalisée en Antarctique là où les communautés bactériennes ne sont pas adaptées à d'importantes variations saisonnières de température. Dans cette région, une

augmentation de température aurait peut-être eu des effets significatifs sur la communauté bactérienne puisqu'il a été démontré par Pedrós-Alió *et al.* (2002) que l'activité des procaryotes dans les eaux australes pouvait être grandement affectée par un changement faible de température. De plus, la température a été identifiée comme étant un facteur déterminant pour l'abondance bactérienne dans les eaux de la PA lors de l'automne, de l'hiver et du printemps austral 2006.

Finalement, aucun effet combiné d'une hausse de température et des RUVB n'a été mesuré sur l'abondance bactérienne et le %HNA.

4.2.2 Effets individuels et combinés d'une hausse des RUVB et de la température sur la diversité bactérienne.

La diversité bactérienne a évolué avec le temps dans tous les mésocosmes. Plusieurs facteurs peuvent avoir contribué à cette évolution de la diversité au cours du temps soient :

- 1) la présence de bactéries allochtones en début d'expérience, 2) une réponse à l'enrichissement en nutriments (Schäfer *et al.* 2001, Joint *et al.* 2002, Øvreås *et al.* 2003),
- 3) une augmentation des particules en suspension modifiant le rapport bactéries libres/bactéries attachées aux particules (Riemann *et al.* 2000), 4) l'effet de paroi (Chen et Kemp 2004), 5) l'augmentation de la prédation avec le temps (Lebaron *et al.* 1999, Riemann *et al.* 2000, Trouselier *et al.* 2005). Par contre, l'analyse multidimensionnelle (MDS) ne suggère pas d'effets évidents du type de traitement sur la diversité bactérienne

dans les mésocosmes. Peu d'études à ce jour ont mis en évidence des effets de la température et des UVB sur la diversité bactérienne en conditions contrôlées.

Au jour 0, la diversité bactérienne était très différente entre les mésocosmes, ce qui peut être attribuable, soit à une répartition non uniforme de l'eau dans les mésocosmes ou à des contaminations. La diversité bactérienne tendait à s'uniformiser avec le temps entre les mésocosmes, indiquant que la dynamique de la communauté bactérienne observée était une réponse systématique et répétable aux conditions de manipulation. Il y avait également une tendance générale à la diminution de la diversité génétique dans le temps pour tous les mésocosmes, ce qui est probablement dû au fait que les UTOs les mieux adaptées aux conditions du milieu ont persisté, alors que les autres ont disparu. Les UTO les plus prédatées, entres autres, ont probablement diminué ou sont disparues vers la fin de l'expérience. Riemann *et al.* (2000) ont noté la disparition de trois phylotypes bactériens dominants au cours de leur expérience en mésocosme par PCR-DGGE. La lyse virale et le broutage par des flagellés ont été identifiés comme des facteurs prédominants dans la disparition de ces trois phylotypes. La quantité de matière organique dissoute chromophorique (MOD-C) a augmenté en moyenne de $0,3 \pm 0,2 \text{ m}^{-1}$ pour les 4 traitements entre le jour 3 et le jour 8 (Xiaomeng Wang, comm. pers.). Les UTOs présentes à la fin de l'expérience étaient probablement celles qui étaient les plus compétitives en présence de matière organique dissoute abondante et celles qui étaient les moins soumises à la prédation. Les patrons de DGGE montrent que ces UTOs étaient sensiblement les mêmes entre les huit (8) mésocosmes au jour 8.

5. CONCLUSION

Cette étude est la première à cibler les communautés bacterioplanctoniques antarctiques sur une période hivernale complète et elle amène des résultats importants pour l'établissement d'un modèle fonctionnel de la pompe biologique à CO₂, particulièrement lors du passage de l'hiver au printemps qui est caractérisé par une hausse combinée de la température et des RUVB. Le suivi des communautés bactériennes dans les eaux de la PA au cours de l'automne, de l'hiver et du printemps austral 2006 a permis de mettre en évidence une grande stabilité des communautés bactériennes lors de cette période. L'abondance bactérienne était principalement contrôlée par l'abondance phytoplanctonique et la température tandis que le %HNA semblait contrôlée par d'autres facteurs, tel la prédation quoique nous ne disposons pas de données sur ce facteur en particulier. De plus, cette étude suggère que le %HNA ne serait pas un indicateur fiable du niveau d'activité de la communauté bactérienne en milieu antarctique contrairement à ce qui a été proposé par d'autres auteurs ayant étudié d'autres types de milieux étant donné que le nombre de cellules LNA variaient davantage dans le temps et verticalement dans la colonne d'eau que le nombre de cellules HNA. La diversité bactérienne dans la couche photique était contrôlée par des variables physiques (température, RUVB, RUVA) tandis que la diversité bactérienne dans la couche aphotique était davantage influencée par les communautés phytoplanctoniques. Cette étude a permis de tester les hypothèses nulles initiales. Premièrement, les résultats ont montré que la structure des communautés présentaient des différences saisonnières. L'abondance bactérienne était significativement inférieure à

l'hiver comparativement à l'automne et au printemps dans la couche photique tandis qu'elle ne présentait pas de différence significative entre les trois saisons dans la couche aphotique. Les UTOs dominantes ont persisté tout au long des trois saisons étudiées dans la couche photique et dans la couche aphotique et les différences saisonnières dans la diversité bactérienne qui ont été observées se situent au niveau des UTOs secondaires qui sont apparues et disparues dans le temps. La diversité bactérienne totale dans la couche photique est demeurée stable au cours de l'automne et de l'hiver et elle a diminué au printemps tandis que la diversité bactérienne totale dans la couche aphotique a diminué de l'automne au milieu de l'hiver puis elle a augmenté à l'arrivée du printemps. Deuxièmement, la structure des communautés bactérioplanctoniques présentait des différences entre la couche photique et la couche aphotique. L'abondance bactérienne était significativement supérieure dans la couche photique que dans la couche aphotique et la diversité bactérienne totale était plus élevée dans la couche photique comparativement à la couche aphotique. Par contre, au printemps, la diversité bactérienne totale était supérieure dans la couche aphotique que dans la couche photique. Les RUVB combinées à la température n'ont pas eu d'effet individuel et synergique sur le %HNA. La température a eu un effet individuel négatif sur l'abondance bactérienne à partir du jour 6 mais les RUVB n'ont pas eu d'effet individuel sur ce paramètre durant la totalité de l'expérience. Les RUVB combinées à la température n'ont pas eu d'effet synergique sur l'abondance bactérienne. Finalement, les RUVB combinées à la température n'ont pas eu d'effet individuel et synergique sur la diversité des communautés bactériennes.

Bien qu'un réchauffement saisonnier de la température semblait favoriser une augmentation de l'abondance bactérienne dans les eaux de la PA, l'augmentation de température à l'intérieur des mésocosmes n'a eu aucun effet positif sur les communautés bactériennes sub-antarctiques. Ceci s'explique par le fait que les communautés utilisées comme témoins lors de cette étude étaient probablement adaptées à des variations de température importantes contrairement aux communautés antarctiques et parce que la hausse de température dans les mésocosmes a été réalisée seulement durant quelques jours tandis que la hausse de température observée dans la PA se poursuit sur une plus longue période. La littérature relève peu d'effets des RUVB au niveau de la communauté bactérienne et les RUVB n'ont eu aucun effet significatif sur les communautés bactériennes sub-antarctiques lors de l'étude en mésocosme, ce qui suggère que les changements de la structure de la communauté qui ont été observés dans les eaux de la PA entre les jours 303 et 314 étaient davantage reliés aux RUVA qu'aux RUVB. Par ailleurs, Helbling *et al.* 1995 ont noté que les RUVA étaient responsables d'une plus grande perte de viabilité que les RUVB chez des souches bactériennes récoltées dans les eaux antarctiques. Il pourrait également s'agir d'effets indirects des RUVB amenés par une diminution de l'abondance phytoplanctonique. Il sera nécessaire de coupler les données bactériologiques avec le reste des données de l'expérience afin de tester les effets potentiels d'une hausse combinée de température et des RUVB sur la pompe biologique mais ce dernier élément dépasse le cadre de ce travail de maîtrise.

6. RÉFÉRENCES

- Agogué, H., Casamayor, E.O., Bourrain, M., Obernosterer, I., Joux, F., Herndl, G.J. et Lebaron, P. 2005(a). A survey on bacteria inhabiting the sea surface microlayer of coastal ecosystems. *FEMS Microbiol Ecol* 54:269-280.
- Agogué, H., Joux, F., Obernosterer, I. et Lebaron, P. 2005(b). Resistance of marine bacterioneuston to solar radiation. *Appl Environ Microbiol* 71:5282-5289.
- Allgaier, M., Riebesell, U., Vogt, M., Thyrraug, R. et Grossart, H.-P. 2008. Coupling of heterotrophic bacteria to phytoplankton bloom development at different pCO₂ levels: a mesocosm study. *Biogeoscience* 5:1007-1022.
- Arrigo, K.R., Robinson, D.H., Worthen, D.L., Dunbar, R.B., DiTullio, G.R., VanWoert, M. et Lizotte, M.P. 1999. Phytoplankton community structure and the drawdown of nutrients and CO₂ in the Southern Ocean. *Science* 283:365-367.
- Bird, D.F. et Karl, D.M. 1999. Uncoupling of bacteria and phytoplankton during the austral spring bloom in Gerlache Strait, Antarctic Peninsula. *Aqua Microbiol Ecol* 19:13-27.
- Blakefield, M. I. et Harris, D. O. 1994. Delay of cell differentiation in *Anabaena aequalis* caused by UV-B radiation and the role of photoreactivation and excision repair. *Photochem Photobiol* 59:204-208.
- Bopp, L., Aumont, O., Cadule, P., Alvain, S. et Gehlen, M. 2005. Response of diatoms distribution to global warming and potential implications: A global model study. *Geophys Res Lett* 32:1-4.
- Bouvier, T.C. et del Giorgio, P.A. 2002. Compositional changes in free-living bacterial communities along a salinity gradient in two temperate estuaries. *Limnol Oceanogr* 47: 453-470.
- Boyd, P. 2000. A mesoscale phytoplankton bloom in the polar Southern Ocean stimulated by iron fertilization. *Nature* 407:695-702.
- Calvo-Díaz, A. et Morán, X.A.G. 2006. Seasonal dynamics of picoplankton in shelf waters of the southern Bay of Biscay. *Aquat Microbiol Ecol* 42:159-174.
- Castle, D. et Kirchman, D.L. 2004. Composition of estuarine bacterial communities assessed by denaturing gradient gel electrophoresis and fluorescence in situ hybridization. *Limnol Oceanogr: Methods* 2:303-314.

- Celussi, M. et Cataletto, B. 2007. Annual dynamics of bacterioplankton assemblages in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea). *Gene* 406:113-123.
- Chen, C.-C. et Kemp, W.M. 2004. Periphyton communities in experimental marine ecosystems: scaling the effects of removal from container walls. *Mar Ecol Prog Ser* 271: 27-41.
- Christaki, U., Obernosteren, I., Wambeke, F.V., Veldhuisa, M., Garcia, N. et Catala, P. 2008. Microbial food web structure in a naturally iron-fertilized area in the Southern Ocean (Kerguelen Plateau). *Deep-Sea Res II* 55:706-719.
- Church, M.J., DeLong E.F., Ducklow, H.W., Karner, M.B., Preston, C.M. et Karl, D.M. 2003. Abundance and distribution of planktonic Archaea and Bacteria in the waters west of the Antarctic Peninsula. *Limnol Oceanogr* 48:1893-1902.
- Cloern, J.E. 1979. Empirical model of *Skeletonema costatum* photosynthetic rate, with applications in the San Francisco Bay estuary. *Adv Water Res* 1:267-274.
- Cook A.J., Fox A.J., Vaughan D.G. et Ferrigno J.G. 2005. Retreating glacier fronts on the Antarctic Peninsula over the past half -century. *Science* 308:541-544.
- Corzo, A., Galvez, S.R., Lubian, L., Sobrino, C., Sangra, P. et Martinez, A. 2005. Antarctic marine bacterioplankton subpopulations discriminated by their apparent content of nucleic acids differ in their response to ecological factors. *Polar Biol* 29:27-39.
- Crump, B. C., Kling, G.W., Bahr, M. et Hobbie, J.E. 2003. Bacterioplankton community shifts in an arctic lake correlate with seasonal changes in organic matter source. *Appl Environ Microbiol* 69:2253-2268.
- Davidson, A.T. et van der Heijden, A. 2000. Exposure of natural Antarctic marine microbial assemblages to ambient UV radiation: effects on bacterioplankton. *Aquat Microbiol Ecol* 21:257-264.
- Del Giorgio, P.A., Gasol, J.M., Vaqué, D., Mura, P., Agustis, S. et Duarte, C.M. 1996. Bacterioplankton community structure: protists control net production and the proportion of active bacteria in a coastal marine community. *Limnol Oceanogr* 41:1169-1179.
- Delille, B., Dellile, D., Fjala, M., Prevost, C. et Frankignoulle, M. 2000 Seasonal changes of pCO₂ over a subantarctic *Macrocystis* kelp bed. *Polar Biol* 23:706-716.
- Delille, D., Fiala, M. et Razouls, S. 1996. Seasonal changes in bacterial and phytoplankton biomass in a subantarctic coastal area (Kerguelen Islands) *Hydrobiol* 330:143-150.

Delille, D. et Rosiers, C. 1996. Seasonal changes of Antarctic marine bacterioplankton and sea ice bacterial assemblages. *Polar Biol* 16:27-34.

DeLong, E. F., Wu, K. Y., Prezelin, B.B. et Jovine, R.V.M. 1994. High abundance of Archaea in Antarctic marine picoplankton. *Nature* 371:695-697.

Díaz, S., Camillón, C., Escobar, J., Defferrari, G., Roy, S., Lacoste, K., Demers, S., Belzile, C., Ferreyra, G., Ganesellas, S., Gosselin, M., Nozais, C., Pelletier, E., Schloss, I. et Vernets, M. 2006. Symposium-in-Print: UV effects on aquatic and coastal ecosystems simulation of ozone depletion using ambient irradiance supplemented with UV lamps. *Photochem Photobiol* 82:857-864.

Döhler, G. 1998. Effect of ultraviolet radiation on pigmentation and nitrogen metabolism of Antarctic phytoplankton and ice algae. *J Plant Physio* 153:603-609.

Ducklow, H.W., Steinberg, D.K. et Buesseler K.O. 2001. Upper ocean carbon export and the biological pump. *Oceanogr* 14:50-58.

Fdz-Polanco, F., Villaverde, S. et Garcia, P.A. 1994. Temperature effect on nitrifying bacteria activity in biofilters: Activation and free ammonia inhibition. *Water Sci Technol* 30:121-130.

Fernández-Severini, M.D. et Hoffmeyer, M.S. 2005. Mesozooplankton assemblages in two bays in the Beagle Channel (Argentina) during January 2001. *Sci Mar* 69:27-37.

Ferreyra, G.A., Mostajir, B., Schloss, I.R., Chatila, K., Ferrario, M.E., Sargian, P., Roy, S., Prod'homme, J. et Demers, S. 2006. Ultraviolet-B radiation effects on the structure and function of lower trophic levels of the marine planktonic food web. *Photochem Photobiol* 82:887-897.

Ferron F.A., Simoes J.C., Aquino F.E. et Setzer A.W. 2004. Air temperature series for King George Island, Antarctica. *Pesq Antart Brasil* 4:155-169.

Fromin, N., Hamelin, J., Tarnawski, S., Roesti, D., Jourdain-Miserez, K., Forestier, N., Teyssier-Cuvelle, S., Gillet, F., Aragno, M. et Rossi, P. 2002. Statistical analysis of denaturing gel electrophoresis (DGE) fingerprinting patterns. *Environ Microbiol* 4:634-643.

Fuchs, B.M., Zubkov, M.V., Sahm, K., Burkill, P.H. et Amann, R. 2000. Changes in community composition during dilution cultures of marine bacterioplankton as assessed by flow cytometric and molecular biological techniques. *Environ Microbiol* 2:191-201.

- Galand, P.E., Lovejoy, C. et Vincent, W.F. 2006. Remarkably diverse and contrasting archaeal communities in a large arctic river and the coastal Arctic Ocean. *Aquat Microbiol Ecol* 44:115-126.
- Gary, E., Schultz, Jr., White E.D. et Ducklow, H.W. 2003. Bacterioplankton dynamics in the York River estuary: primary influence of temperature and freshwater inputs. *Aquat Microbiol Ecol* 30:135-148.
- Gasol, J.M., del Giorgio, P.A., Massana, R. et Duarte et C.M. 1995. Active versus inactive bacteria: size-dependence in a coastal marine plankton community. *Mar Ecol Prog Ser* 128:91-97.
- Gasol, J.M., del Giorgio, P.A., Duarte, C.M. 1997. Biomass distribution in marine planktonic communities. *Limnol Oceanogr* 42:1353-1363.
- Gasol, J.M., Zweifel, U.L., Peters, F., Fuhrman, J.A. et Hagström, A. 1999. Significance of size and Nucleic acid content heterogeneity as measured by flow cytometry in natural planktonic bacteria. *Appl Environ Microbiol* 65:4475-4483.
- Grossmann, S. 1994. Bacterial-activity in sea-ice and open water of the Weddell Sea, Antarctica—a microautoradiographic study. *Microbial Ecol* 28:1-18.
- Gustavson, K., Garde, K., Wängberg, S.-A. et Selmer, J.-S. 2000. Influence of UV-B radiation on bacterial activity in coastal waters. *J Plank Res* 22:1501-1511.
- Hansen, J., Martos, P. et Madirolas, A. 2001. Relationship between spatial distribution of the Patagonian stock of Argentine anchovy, *Engraulis anchoita*, and sea temperature during late spring-early summer. *Fisheries Oceanogr* 10:193-206.
- Helbling, E.W., Marguet, E.R., Villafane, V.E. et Ansen, O.H. 1995. Bacterioplankton viability in Antarctic waters as affected by solar ultraviolet radiation. *Mar Ecol Prog Ser* 126:293-298.
- Hoppe, H.G., Gocke, K., Koppe, R. et Begler, C. 2002. Bacterial growth and primary production along a north–south transect of the Atlantic Ocean. *Nature* 416:168-171.
- Intergovernmental panel on climate change (IPCC). 2007. Climate Change 2007: Synthesis Report. IPCC, 73 p.
- Jochem F.J., Lavrentyev P.J., First M.R. 2004. Growth and grazing rates of bacteria groups with different apparent DNA content in the Gulf of Mexico. *Mar Biol* 145:1213-1225.

- Joint, I., Henriksen, P., Fonnes, G.A., Bourne, D., Thingstad, T.F. et Riemann, B. 2002. Competition for inorganic nutrients between phytoplankton and bacterioplankton in nutrient manipulated mesocosms. *Aquat Microb Ecol* 29:145-159.
- Kaiser, E. et Herndl, G.J. 1997. Rapid recovery of marine bacterioplankton activity after inhibition by UV radiation in coastal waters. *Appl Environ Microbiol* 63:4026-4031.
- Kan, J., Crump, B.C., Wang, K. et Chen, F. 2006. Bacterioplankton community in Chesapeake Bay: Predictable or random assemblages. *Limnol Oceanogr* 51:2157-2169.
- Karentz, D. et Bosch, I. 2001. Influence of ozone-related increases in ultraviolet radiation on Antarctic marine organisms. *Amer Zool* 41:3-16.
- Konopka, A., Bercot, T. et Nakatsu, C. 1999. Bacterioplankton community diversity in a series of thermally stratified lakes. *Microbiol Ecol* 38:126-135.
- Laanbroek, H.J., Verplanke, J.C., de Visscher, P.R.M. et de Vuyst, R. 1985. Distribution of phyto- and bacterioplankton growth and biomass parameters, dissolved inorganic nutrients and free amino acids during a spring bloom in the Oosterschelde basin, The Netherlands. *Mar Ecol Prog Ser* 25:1-11.
- Landry, M.R., Barber, R.T., Bidigare, R.R., Chai, F., Coale, K.H., Dam, H.G., Lewis, M.R., Lindley, S.T., McCarthy, J.J., Roman, M.R., Stoecker, D.K., Verity, P.G. et White, J.R. 1997. Iron and grazing constraints on primary production in the Central Equatorial Pacific, an EqPac synthesis. *Limnol and Oceanogr* 42:405-418.
- Leakey, R.J.G., Fenton, N. et Clarke, A. 1994. The annual cycle of planktonic ciliates in nearshore waters at Signy Island, Antarctica. *J Plank Res* 16:841-856.
- Lebaron, P., Servais, P., Trouselier, M., Courties, V., Vives-Rego, J., Muyzer, G., Bernard, L., Guindulain, T., Schäfer, H. et Stackebrandt, E. 1999. Changes in bacterial community structure in seawater mesocosms differing in their nutrient status. *Aquat Microbial Ecol* 19:255-267.
- Lebaron, P., Servais, P., Agogue, H., Courties, C. et Joux, F. 2001. Does the high nucleic acid content of individual bacterial cells allow us to discriminate between active cells and inactive cells in aquatic systems? *Appl Environ Microbiol* 67:1775-1782.
- Lebaron, P., Servais, P., Baudoux, A.-C., Bourrain, M., Courties, C. et Parthuisot, N. 2002. Variations of bacterial-specific activity with cell size and nucleic acid content assessed by flow cytometry. *Aquat Microbiol Ecol* 28:131-140.
- Lemarchand, K., Berthiaume, F., Maynard, C., Harel, J., Payment, P., Bayardelle, P., Masson, L. et Brousseau, R. 2005. Optimization of microbial DNA extraction and

purification from raw wastewater samples for downstream pathogen detection by microarrays. *J Microbiol Meth* 63:115-126.

Li, W.K.W., Jellett, J.F. et Dickie, P.M. 1995. DNA distributions in planktonic bacteria stained with TOTO or TO-PRO. *Limnol Oceanogr* 40:1485-1495.

Lindström, E.S. 1998 Bacterioplankton community composition in a boreal forest lake. *FEMS Microbiol Ecol* 27:163-174.

Longnecker, K., Sherr, B.F. et Sherr, E.B. 2005. Activity and phylogenetic diversity of bacterial cells with high and low nucleic acid content and electron transport system activity in an upwelling ecosystem. *Appl Environ Microbiol* 71:7737-7749.

Longnecker, K., Sherr, B.F. et Sherr, E.B. 2006. Variation in cell-specific rates of leucine and thymidine incorporation by marine bacteria with high and with low nucleic acid content off the Oregon coast. *Aqua Microbiol Ecol* 43:113-125.

Marie, D., Brussaard, C.P.D., Partensky, F. et Vaulot, D. 1999. Flow cytometric analysis of phytoplankton, bacteria and viruses. *Current Protocols in Cytometry*, Vol. 11.11 (Robinson JP, ed), pp. 1-15. John Wiley & Sons, New York.

Massana, R., Pedrós-Alió, C., Casamayor, E.O. et Gasol, J.M. 2001. Changes in marine bacterioplankton phylogenetic composition during incubations designed to measure biogeochemically significant parameters. *Limnol Oceanogr* 46:1181-1188.

McManus, G.B., Griffin, P.M. et Pennock, J.R. 2004. Bacterioplankton abundance and growth in a river-dominated estuary: relationships with temperature and resources. *Aquat Microbiol Ecol* 37:23-32.

Morán, X.A.G., Gasol, J.M., Pedrós-Alió, C. et Estrada, M. 2002. Partitioning of phytoplanktonic organic carbon production and bacterial production along a coastal-offshore gradient in the NE Atlantic during different hydrographic regimes. *Aquat Microbiol Ecol* 29:239-252.

Morán, X.A.G., Fernández, E. et Pérez, V. 2004. Size-fractionated primary production, bacterial production and net community production in subtropical and tropical domains of the oligotrophic NE Atlantic in autumn. *Mar Ecol Prog Ser* 274:17-29.

Morán, X.A.G., Bode, A., Suárez, L.A. et Nogueira, E. 2007. Assessing the relevance of nucleic acid content as an indicator of marine bacterial activity. *Aquat Microbiol Ecol* 46: 141-152.

- Murray, A.E., Preston, C.M., Massana, R., Taylor, L.T., Blakis, A., Wu, K. et DeLong, E.F. 1998. Seasonal and spatial variability of bacterial and archaeal assemblages in the coastal waters near Anvers Island, Antarctica. *Appl and Environ Microbiol* 64:2585-2595.
- Muyzer, G., de Waal, E.C. et Uitterlinden, A.G. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* 59:695-700.
- Nunez, M., Davidson, A.T. et Michael, K. 2006 Modelled effects of ambient UV radiation on a natural Antarctic marine microbial community. *Aquat Microbial Ecol* 42:75-90.
- Øvreås, L., Bourne, D., Sandaa, R.-A., Casamayor, E.O., Benlloch, S., Goddard, V., Smerdon, V., Heldal, M. et Thingstad, T.F. 2003. Response of bacterial and viral communities to nutrient manipulations in seawater mesocosms. *Aquat Microbial Ecol* 31: 109-121.
- Pazminõ, A.F., Godin-Beekmann, S., Ginzburg, M., Bekki, S., Hauchecorne, A. et Quel, E.J. 2005. Impact of Antarctic polar vortex occurrences on total ozone and UVB radiation at southern Argentinean and Antarctic stations during 1997-2003 period. *J Geophys Res D: Atmos* 110:1-13.
- Pedrés-Alió, C., Vaqué, D., Guixa-Boixereu, N. et Gasol, J.M. 2002. Prokaryotic plankton biomass and heterotrophic production in western Antarctic waters during 1995-1996 Austral Summer. *Deep-Sea Res II* 49:805-825.
- Perreault, N.N., Andersen, D.T., Pollard, W.H., Greer, C.W. et Whyte, L.G. 2007. Characterization of the Prokaryotic Diversity in cold saline perennial springs of the Canadian high Arctic. *Appl Environ Microbiol* 73:1532-1543.
- Pinhassi, J., Hagström, A. 2000. Seasonal succession in marine bacterioplankton. *Aquat Microbiol Ecol* 21:245-256.
- Planken, K.L., Koenderink, G.H., Roozendaal, R. et Philipse, A.P. 2005. Monodisperse DNA restriction fragments I. Synthesis and characterization. *J Colloid Interf Sci* 291:120-125.
- Pomeroy, L.R., Wiebe, W.J., Deibel, D., Thompson, R.J., Rowe, G.R. et Pakulski, J.D. 1991. Bacterial responses to temperature and substrate concentration during the Newfoundland spring bloom. *Mar Ecol Prog Ser* 75:143-159.
- Rattray, J. et Logan, N.A. 1993. Effects of pH and temperature on heterotrophic bacteria in acidified and non-acidified lochs. *J Appl Bacteriol* 75:283-291.

- Riemann, L., Steward, G.F. et Azam F. 2000. Dynamics of bacterial community composition and activity during a mesocosm diatom bloom. *Appl Environ Microbiol* 66:578-587.
- Robinson, C., Archer, S.D. et Williams, P.J.L. 1999. Microbial dynamics in coastal waters of East Antarctica: plankton production and respiration. *Mar Ecol Prog Ser* 180:23-36.
- Robinson, C., Widdicombe, C.E., Zubkov, M.V., Tarran, G.A., Miller, A.E.J. et Rees, A.P. 2002. Plankton community respiration during a coccolithophore bloom. *Deep-Sea Res II* 49:2929-2950.
- Röling, W.F.M., Van Breukelen, B.M., Braster, M., Lin, B. et Van Verseveld, H.W. 2001. Relationships between microbial community structure and hydrochemistry in a landfill leachate-polluted aquifer. *Appl Environ Microbiol* 67:4619-4629.
- Sala, M.M., Arin, L., Balagué, V., Felipe, J., Guadayol, O. et Vaqué, D. 2005. Functional diversity of bacterioplankton assemblages in western Antarctic seawaters during late spring. *Mar Ecol Prog Ser* 292:13-21.
- Sala, M.M., Estrada, M. et Gasol, J.M. 2006. Seasonal changes in the functional diversity of bacterioplankton in contrasting coastal environments of the NW Mediterranean. *Aquat Microbiol Ecol* 44:1-9.
- Sargian, P., Mas, S., Pelletier, É. et Demers, S. 2007. Multiple stressors on an Antarctic microplankton assemblage: water soluble crude oil and enhanced UVBR level at Ushuaia (Argentina). *Polar Biol* 30:829-841.
- Scharek, R. et Latasa, M. 2007. Growth, grazing and carbon flux of high and low nucleic acid bacteria differ in surface and deep chlorophyll maximum layers in the NW Mediterranean Sea. *Aquat Microbiol Ecol* 46:153-161.
- Schäfer, H., Servais, P. et Muyzer, G. 2000. Successional changes in the genetic diversity of a marine bacterial assemblage during confinement. *Arch Microbiol* 173:138-145.
- Schäfer, H. et Muyzer, G. 2001. Denaturing gradient gel electrophoresis in marine microbial ecology. In: Paul J (ed) *Methods in microbiology*, vol 30. Academic Press, London:425-468.
- Schäfer, H., Bernard, L., Courties, C., Lebaron, P., Servais, P., Pukall, R. Stackebrandt, E., Troussellier, M., Guindulain, T., Vives-Rego, J. et Muyzer, G. 2001. Microbial community dynamics in Mediterranean nutrient enriched seawater mesocosms: changes in the genetic diversity of bacterial populations. *FEMS Microbiol Ecol* 34:243-253.

Schloss, I.R., Ferreyra, G.A., González, O., Atencio, A., Fuentes, V., Tosonotto, G., Mercuri, G., Sahade, R., Tatián, M. et Abele, D. 2006. Long term hydrographic conditions and climate trends in Potter Cove. Report of Polar Res. 8 p.

Schwalbach, M.S., Brown, M. et Fuhrman, J.A. 2005. Impact of light on marine bacterioplankton community structure. *Aquat Microb Ecol* 39:235-245.

Sekiguchi, H., Tomioka, N., Nakahara, T. et Uchiyama, H. 2001. A single band does not always represent single bacterial strains in denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Biotechnol Lett* 23:1205-1208.

Servais, P., Casamayor, E.O., Courties, C., Catala, P., Parthuisot, N. et Lebaron, P. 2003. Activity and diversity of bacterial cells with high and low nucleic acid content. *Aqua Microbiol Ecol* 33:41-51.

Seymour, J.R., Seuront, L., Mitchell, J.G. 2005. Microscale and small-scale temporal dynamics of a coastal planktonic microbial community. *Mar Ecol Prog Ser* 300:21-37.

Sherr, B.F., Sherr, E.B. et Rassoulzadegan, F. 1988. Rates of digestion of bacteria by marine phagotrophic protozoa: temperature dependence. *Appl Environ Microbiol* 54:1091-1095.

Sherr, E.B., Sherr, B.F. et Longnecker, K. 2006. Distribution of bacterial abundance and cell-specific nucleic acid content in the Northeast Pacific Ocean. *Deep-Sea Res* 53:713-725.

Shiah, E.-K. et Ducklow, H.W. 1995. Regulation of bacterial abundance and production by substrate supply and bacterivory: A Mesocosm Study. *Microbial Ecol* 30:239-255.

Simek, K., Kojecka, P., Nedoma, J., Hartman, P., Vrba, J. et Dolan, J.R. 1999. Shifts in bacterial community composition associated with different microzooplankton size fractions in a eutrophic reservoir. *Limnol Oceanogr* 44:1634-1664.

Smith, E. M. et del Giorgio, P. A. 2003. Low fractions of active bacteria in natural aquatic communities? *Aquat Microbiol Ecol* 31:203-208.

Søndergaard, M., Williams, P.J.L., Cauwet, G., Riemann, B., Robinson, C., Terzic, S., Woodward, E.M.S. et Worm, J. 2000 Net accumulation and flux of dissolved organic carbon and dissolved organic nitrogen in marine plankton communities. *Limnol Oceanogr* 45:1097-1111.

Speksnijder, A., Kowalchuk, G.A., De Jong, S., Kline, E., Stephen, J.R. et Laanbroek, H.J. 2001. Microvariation artifacts introduced by PCR and cloning of closely related 16S rRNA gene sequences. *Appl Environ Microbiol* 67:469- 472.

- Stoica, E. et Herndl, G.J. 2007. Bacterioplankton community composition in nearshore waters of the NW Black Sea during consecutive diatom and coccolithophorid blooms. *Aquat Sci* 69:413-418.
- Sommer, U. et Lengfellner, K. 2008. Climate change and the timing, magnitude, and composition of the phytoplankton spring bloom. *Global Change Biol* 14:1199-1208.
- Tadonl    , R.D., Planas, D., Lucotte, A. 2005. Microbial food webs in boreal humic lakes and reservoirs: ciliates as a major factor related to the dynamics of the most active bacteria. *Microbiol Ecol* 49:325-341.
- Thyssen, M. 2002. Etude de la distribution spatiale de l'ultraplancton en Atlantique Nord Est (Programme POMME). M  moire pr  sent     l'Univ M  diterran    . 44 p.
- Topping, J.N., Heywood J.L., Ward, P. et Zubkov, M.V. 2006. Bacterioplankton composition in the Scotia Sea, Antarctica, during the austral summer of 2003. *Aquat Microbiol Ecol* 45:229-235.
- Troussellier, M., Schäfer, H., Batailler, N., Bernard, L., Courties, C., Lebaron, P., Muyzer, G., Servais, P. et Vives-Rego, J. 2002. Bacterial activity and genetic richness along an estuarine gradient (Rhône River plume, France). *Aquat Microbiol Ecol* 28:13-24.
- Troussellier, M., Got, P., Mboup, M., Corbin, D., Giuliano, L., Cappello, S. et Bouvy, M. 2005. Daily bacterioplankton dynamics in a sub-Saharan estuary (Senegal River, West Africa): a mesocosm study. *Aquat Microb Ecol* 40:13-24.
- Turner, J., Colwell, S.R., Marshall, G.J., Lachlan-Cope, T.A., Carleton, A.M., Jones, P.D., Lagun, V., Reid, P.A. et Iagovkina S. 2005. Antarctic climate change during the last 50 years. *Int J Climatology* 25:279-294.
- Van Hannen, E.J., van Agterveld, M.P., Gons, H.J. et Laanbroek, H.J. 1998. Revealing genetic diversity of eukaryotic microorganisms in aquatic environments by denaturing gradient gel electrophoresis. *J Phycol* 34:206-213.
- Van Hannen, E. J., Zwart, G., van Agterveld, M.P., Gons, H.J., Ebert, J. et Laanbroek, H.J. 1999(a). Changes in the bacterial and eukaryotic community structure after mass lysis of filamentous cyanobacteria associated with viruses. *Appl Environ Microbiol* 65: 795-801.
- Van Hannen, E. J., Mooji, W., van Agterveld, M.P., Gons, H.J. et Laanbroek, H.J. 1999(b). Detritus-dependent development of the microbial community in an experimental system: qualitative analysis by denaturing gradient gel electrophoresis. *Appl Environ Microbiol* 65:2478-2484.

Vaqué, D., Casamayor, E.O. et Gasol, J.M. 2001. Dynamics of whole community bacterial production and grazing losses in seawater incubations as related to the changes in the proportions of bacteria with different DNA content. *Aquat Microbiol Ecol* 25:163-177.

Vaqué, D., Guixa-Boixerau, N., Gasol, J.M. et Pedrós-Alió, C. 2002. Distribution of microbial biomass and importance of protists in regulating prokaryotic assemblages in three areas close to the Antarctic Peninsula in spring and summer 1995–96. *Deep-Sea Res II* 49:847-867.

Wiebe, W.J., Sheldon, Jr., W.M. et Pomeroy, L.R. 1992. Bacterial growth in the cold: evidence for an enhanced substrate requirement. *Appl Environ Microbiol* 58:359-364.

Wiebe, W.J., Sheldon, Jr., W.M. et Pomeroy, L.R. 1993. Evidence for an enhanced substrate requirement by marine mesophilic bacterial isolates at minimal growth temperatures. *Microb Ecol* 25:151-159.

Winter, C., Moeseneder, M.M. et Herndl, G.J. 2001. Impact of UV Radiation on Bacterioplankton Community Composition. *Appl Environ Microbiol* 67:665-672.

Zapata, M., Rodríguez, F. et Garrido, J.L. 2000. Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton : a new HPLC method using a reversed phase C₈ column and pyridine-containing mobile phases. *Mar Ecol Prog Ser* 195:29-45.

Zenoff, V.F., Sineriz, F. et Farias, M.E. 2006. Diverse response to UV-B radiation and repair mechanisms of bacteria isolated from high-altitude aquatic environments. *Appl Environ Microbiol* 72:7857-7863.

Zubkov, M.V., Sleight, M.A. et Burkill, P.H. 2000. Assaying picoplankton distribution by flow cytometry of underway samples collected along a meridional transect across the Atlantic Ocean. *Aquat Microbiol Ecol* 21:13-20.

Zubkov, M.V., Fuchs, B.M., Burkill, P.H. et Amann, R. 2001. Comparison of cellular and biomass specific activities of dominant bacterioplankton groups in stratified waters of the Celtic Sea. *Appl Environ Microbiol* 67:5210-5218.

7. ANNEXES

Annexe 1 : Données de lumière et évolution verticale des variables environnementales lors du suivi saisonnier des communautés bactériennes à l'ouest de la PA.

La présence de glace était rarement observée au cours de la période d'échantillonnage. Les seules journées d'échantillonnage où il y avait de la glace en surface étaient les jours juliens 241, 280 et 284. La concentration en ozone stratosphérique au-dessus de la zone d'étude était très basse entre les jours juliens 260 et 282 avec une valeur moyenne de 179 ± 40 DU et cette période est considérée comme le maximum du trou dans la couche d'ozone (données de la NASA). Un seul point d'échantillonnage se retrouve dans cette période (jour 280). La figure A1.1 illustre les valeurs d'irradiance du PAR et des RUV (305, 313, 320, 340, 380 nm) au-dessus de la surface de l'océan durant la totalité de la période d'échantillonnage. Les radiations solaires étaient très faibles lors de la première moitié de la période d'étude. Elles ont augmenté du milieu de l'hiver (jour 220) jusqu'à la fin de la période d'étude à l'exception de quelques journées nuageuses. Les radiations solaires étaient particulièrement élevées aux jours juliens 310 et 314 en raison de l'augmentation de la photopériode et des conditions météorologiques ensoleillées. L'évolution de l'irradiance dans le temps était similaire entre les différentes longueurs d'onde. Pour ce travail, les radiations à 320 nm seront utilisées pour traiter des RUVB et les radiations à 340 nm seront considérées pour les RUVA. Le rapport UVB/UVA a augmenté du début à la fin de l'hiver pour passer d'une valeur de 0,20 au jour 175 à une valeur de 0,53 au jour 260 (figure A1.2). Il est demeuré stable au printemps à l'exception du jour 280

où il a atteint une valeur maximale de 0,57. La couche d'ozone stratosphérique était très mince lors de cette journée avec une épaisseur de près de 150 DU. Les figures A1.3, A1.4 et A1.5 représentent la pénétration des RUVB, des RUVA et des radiations du PAR dans les 50 premiers mètres de la colonne d'eau pour 4 jours représentatifs de la période d'échantillonnage. Les données ont été extrapolées à partir des valeurs de coefficients d'extinction (K_d) pour les RUVB, les RUVA et le PAR (S. Moreau, comm. pers.).

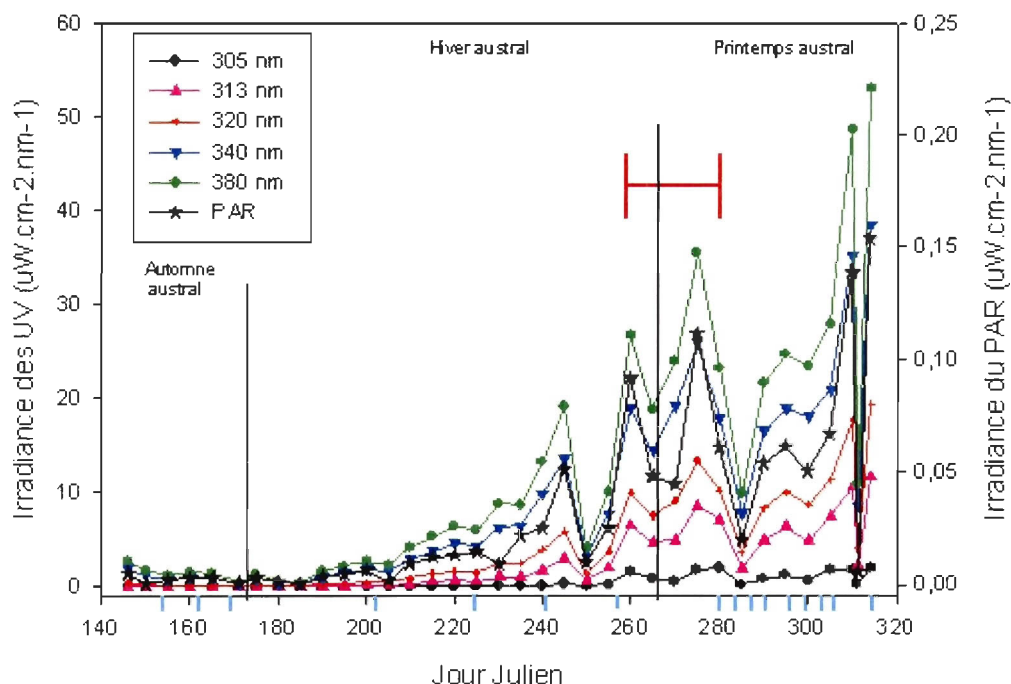


Figure A1.1 : Valeurs d'irradiance de la lumière visible (PAR) et des RUV à 305, 313, 320, 340 et 380 nm mesurées à midi (heure locale) au-dessus de la surface de l'eau à l'aide d'un spectroradiomètre GUV. Les lignes continues verticales séparent les saisons, les traits rouges délimitent la période du maximum du trou dans la couche d'ozone et les traits bleu pâle sous l'axe des x représentent les points d'échantillonnage.

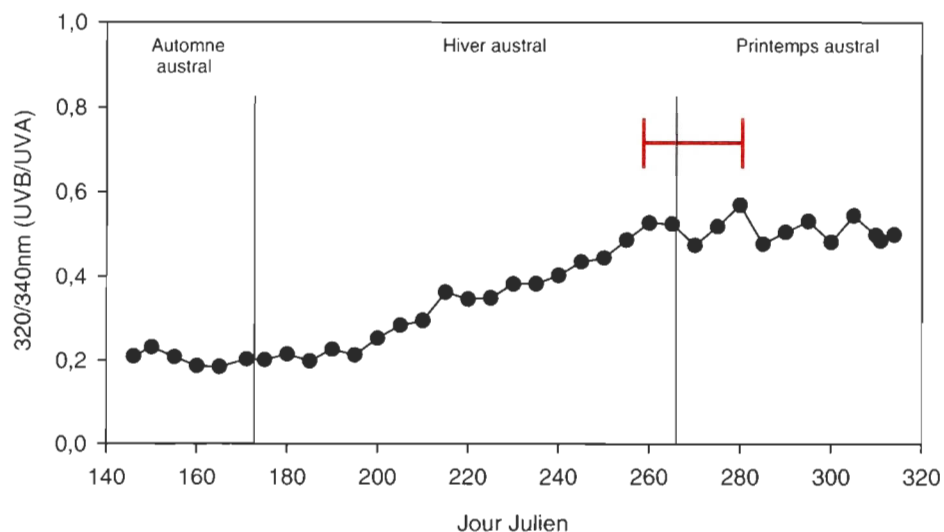


Figure A1.2 : Évolution du rapport 320/340 nm (UVB/UVA) sur la période d'étude. Les lignes continues verticales séparent les saisons et les traits rouges délimitent la période du maximum du trou dans la couche d'ozone.

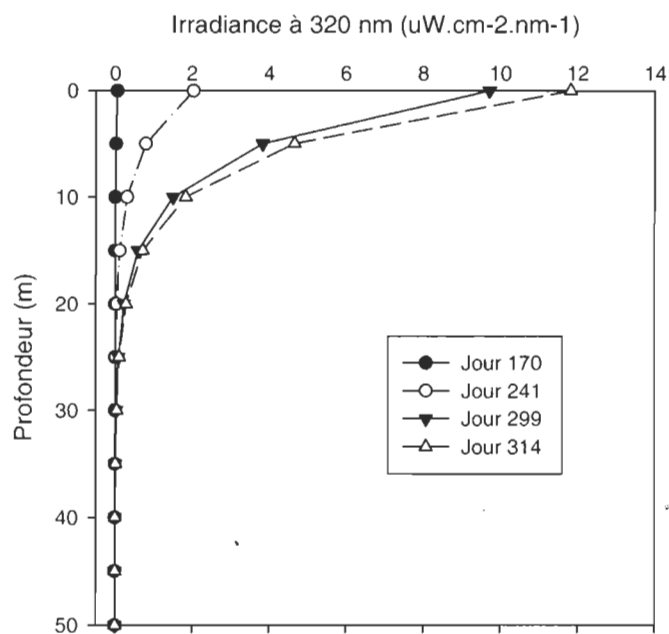


Figure A1.3 : Pénétration des RUVB dans les 50 premiers mètres de la colonne d'eau pour les jours 170, 241, 299 et 314 (gracieuseté de S. Moreau).

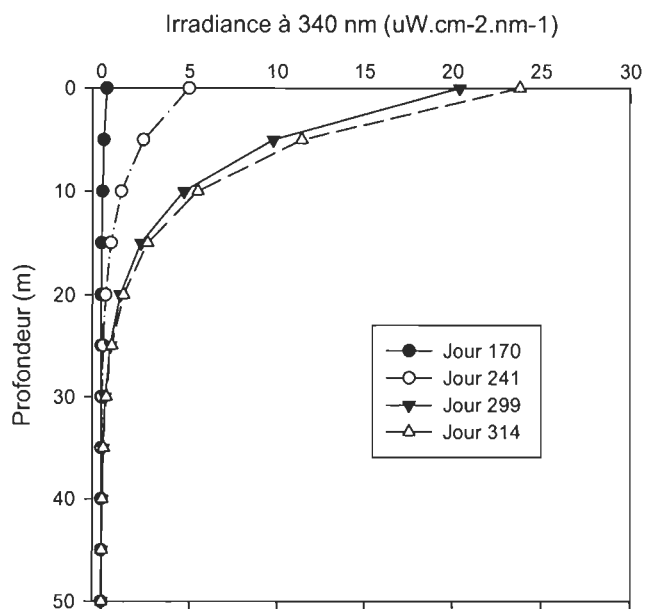


Figure A1.4 : Pénétration des RUVA dans les 50 premiers mètres de la colonne d'eau pour les jours 170, 241, 299 et 314 (gracieuseté de S. Moreau).

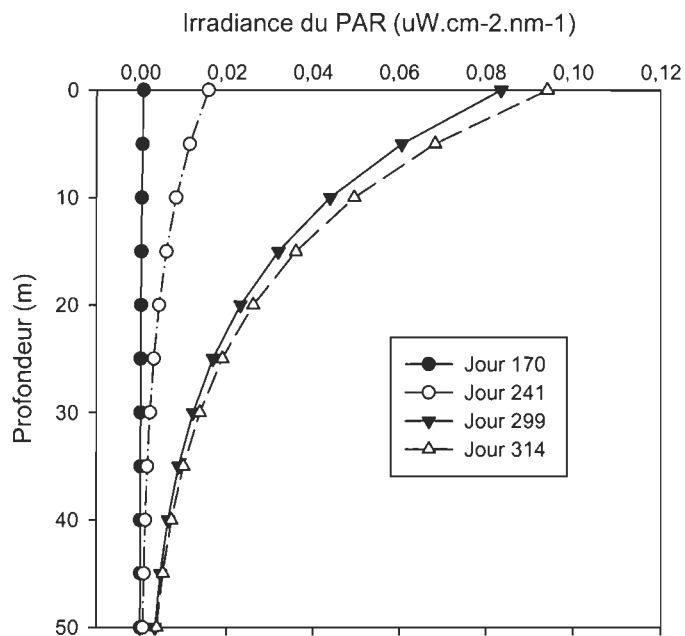


Figure A1.5 : Pénétration des radiations du PAR dans les 50 premiers mètres de la colonne d'eau pour les jours 170, 241, 299 et 314 (gracieuseté de S. Moreau).

La salinité, la température et la densité de l'eau ont varié davantage avec la profondeur aux jours 299 et 314 comparativement aux jours 170 et 241 (figures A1.6 et A1.7). Pour chacun des paramètres, les variations mesurées entre les profondeurs pour un jour donné et entre les 4 jours étudiés pour une profondeur donnée étaient toujours inférieures à 1,5 unité. La température, la salinité et la densité tendaient à augmenter avec la profondeur pour les 4 jours à l'exception du jour 314 où la température de l'eau à la surface était 0,5 °C plus chaude que l'eau à 30 m de profondeur (figure A1.7b). La figure A1.8 illustre la variation de l'indice de stratification de Simpson calculé au cours des trois saisons échantillonnées (S. Moreau, comm. pers.). Un indice de Simpson supérieur à 40 J.m^{-3} caractérise une colonne d'eau stratifiée tandis qu'un indice inférieur à 40 J.m^{-3} est caractéristique d'une colonne d'eau homogène (Hansen *et al.* 2001). Mise à part les jours 299, 303 et 306 où la colonne d'eau était stratifiée (figure A1.8), les jours échantillonnés étaient caractérisés par une colonne d'eau relativement homogène et celle-ci était particulièrement bien mélangée entre la fin de l'hiver austral et le début du printemps (jours 241, 257, 280) avec des indices de Simpson inférieurs à 15 J.m^{-3} .

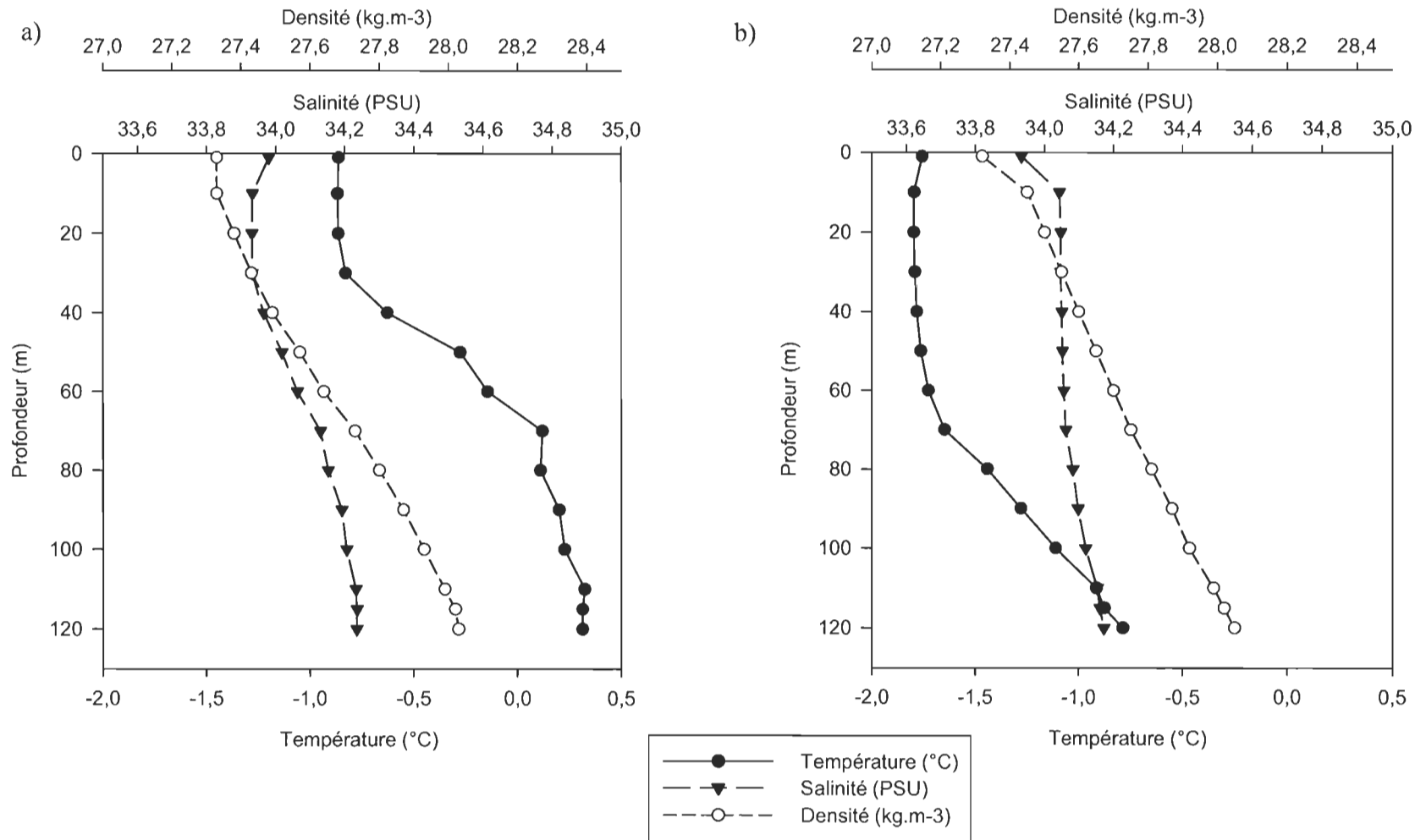


Figure A1.6 : Profils verticaux de CTD incluant la température, la salinité et la densité pour a) le jour 170 et b) le jour 241.

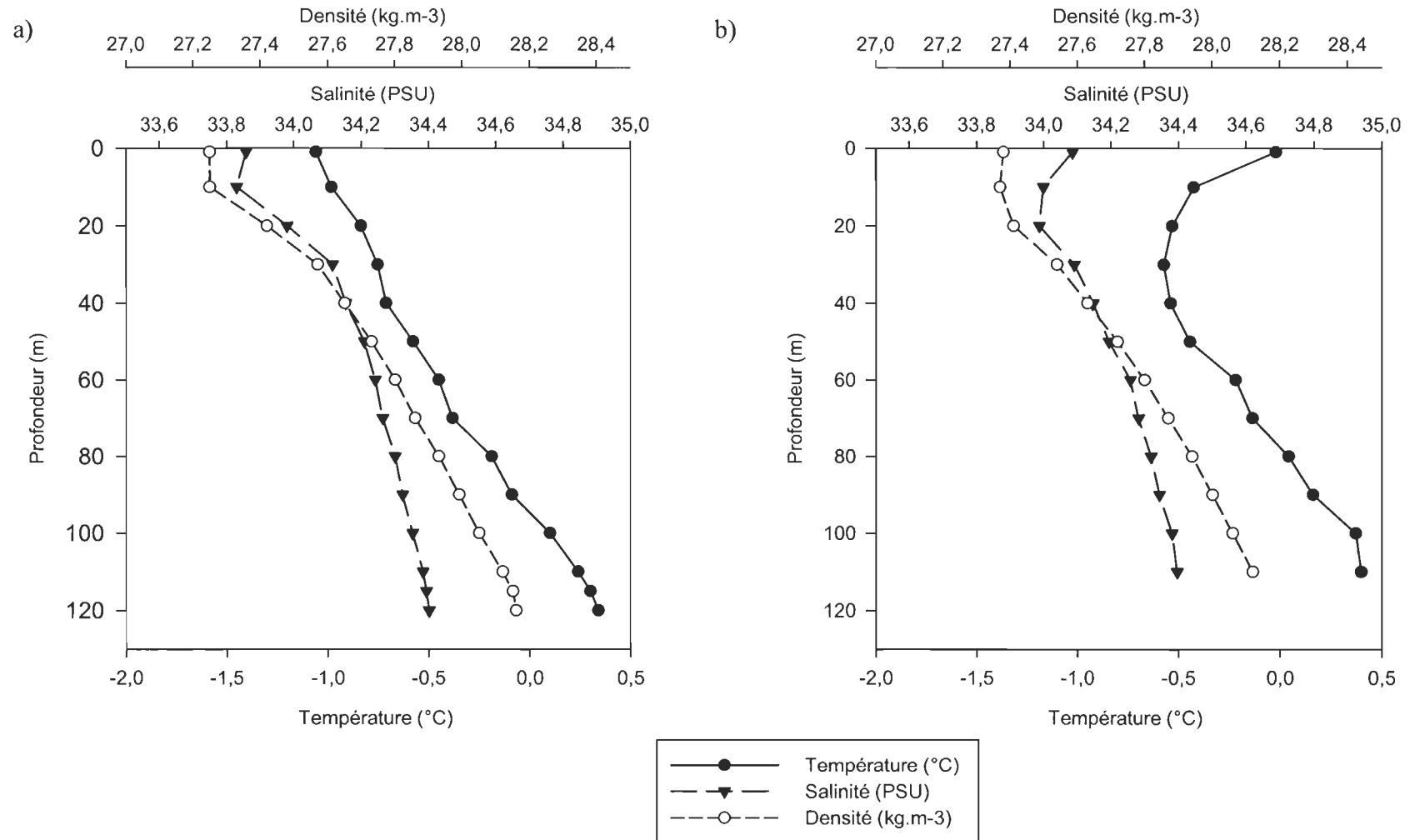


Figure A1.7 : Profils verticaux de CTD incluant la température, la salinité et la densité pour a) le jour 299 et b) le jour 314.

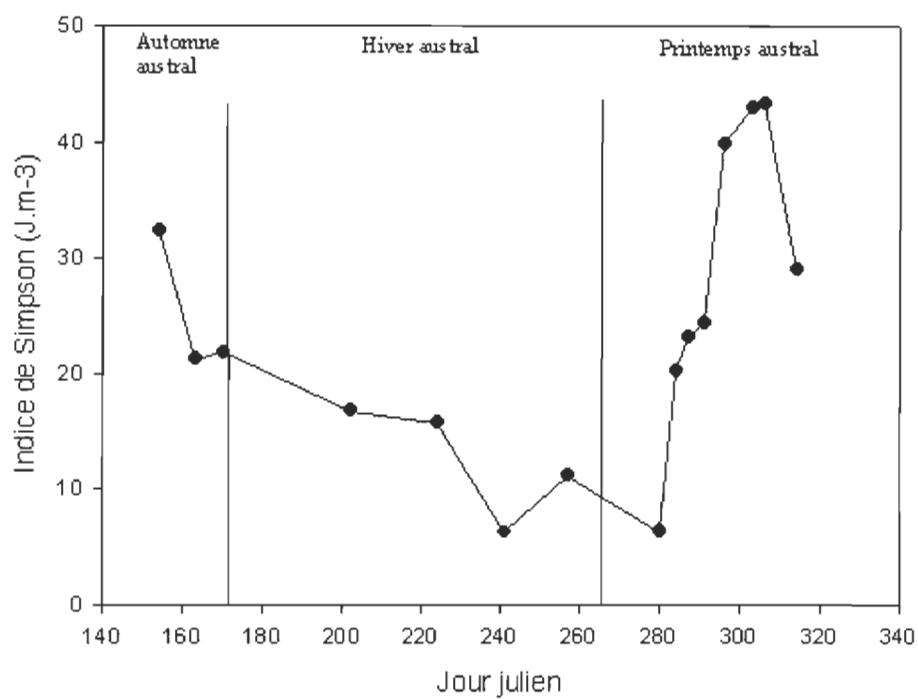


Figure A1.8 : Variation de l'indice de stratification de Simpson au cours de la période d'échantillonnage (gracieuseté de S. Moreau). Les lignes verticales continues séparent les saisons.

Annexe 2 : RUVB et température lors du suivi des communautés bactériennes soumises aux différents traitements en conditions contrôlées (mésocosmes).

L'intensité naturelle des RUVB (320nm) obtenues à l'aide du GUV sur le site d'étude au cours de l'expérience est illustrée à la figure A2.1. L'intensité des RUVB atteignait des valeurs maximales entre 13h et 16h. Les jours 0,5, 1, 3 et 4 ont été les journées où l'exposition naturelle aux RUVB était la plus élevée avec des valeurs d'irradiance dépassant $20 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{nm}^{-1}$. L'intensité moyenne des RUVB mesurée à l'aide du PUV à 12h à la surface des mésocosmes UVB+ (RUVB augmentées) et UVB+T+ (RUVB augmentées et température augmentée) a varié entre 15,8 et $73,8 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{nm}^{-1}$, tandis que celle mesurée dans les mésocosmes contrôles et T+ s'est trouvée entre 5,3 et $38,9 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{nm}^{-1}$ (figure A2.2). L'augmentation fractionnelle moyenne de la lumière à 320 nm dans les mésocosmes UVB+ et UVB+T+ par rapport aux mésocosmes contrôles et T+ était de 126%. L'intensité des RUVB était particulièrement élevée au jour 6 dans les deux mésocosmes UVB+T+ avec une valeur d'irradiance moyenne à 320 nm atteignant $83,60 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{nm}^{-1}$. Les coefficients d'extinction moyens à 320 nm pour les trois traitements et le contrôle en fonction du temps sont représentés à la figure A2.3. Ceux-ci sont demeurés relativement stables avec le temps pour les mésocosmes contrôles et les mésocosmes UVB+ et ils ont augmenté dans les mésocosmes T+ et UVB+T+ suggérant une augmentation plus importante de la concentration de particules en suspension avec le temps dans ces mésocosmes.

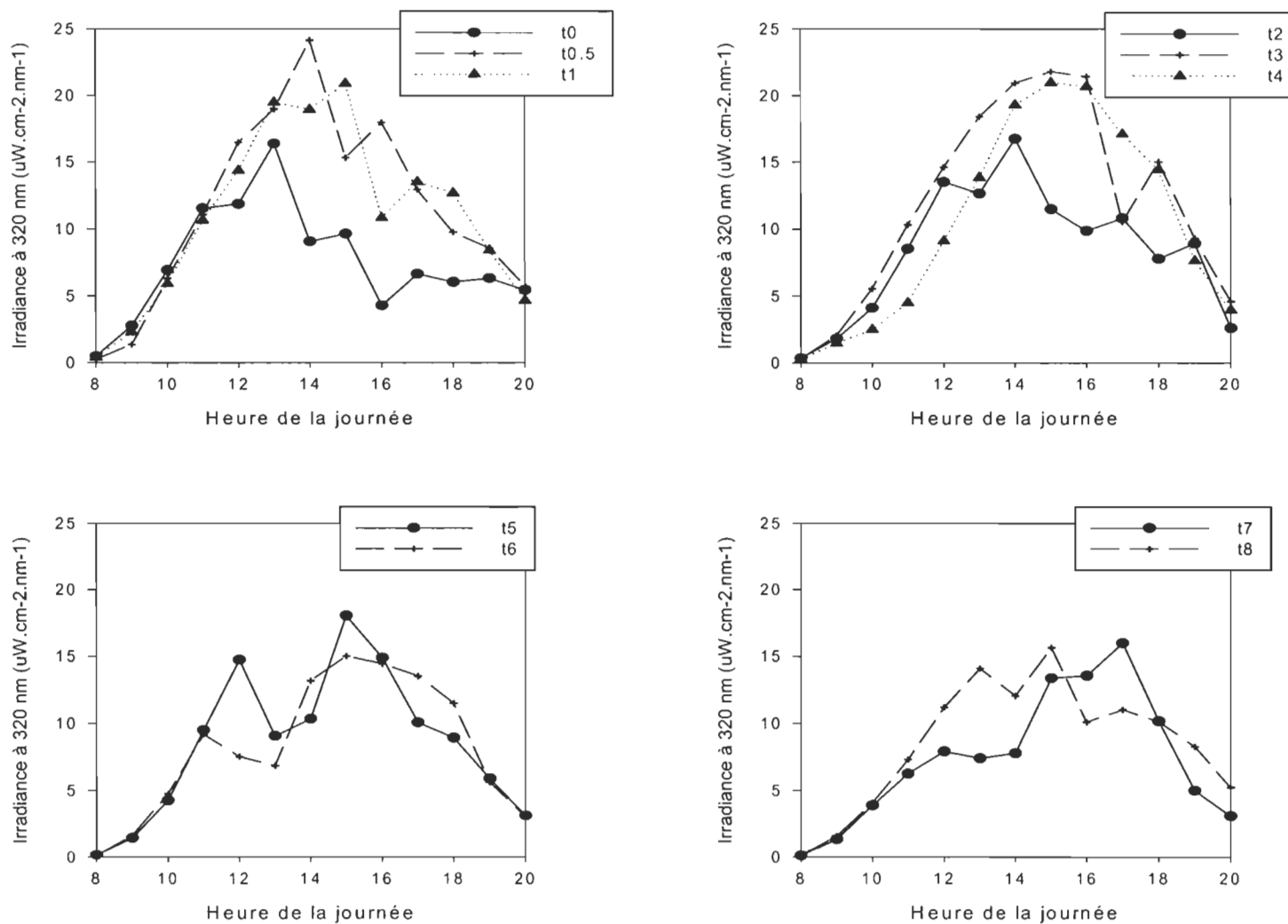


Figure A2.1 : Irradiance naturelle à 320 nm mesurée sur le site des mésocosmes à l'aide du GUV en fonction des heures de la journée lors des 10 jours de l'expérience (t0, t0,5, t1, t2, t3, t4, t5, t6, t7 et t8).

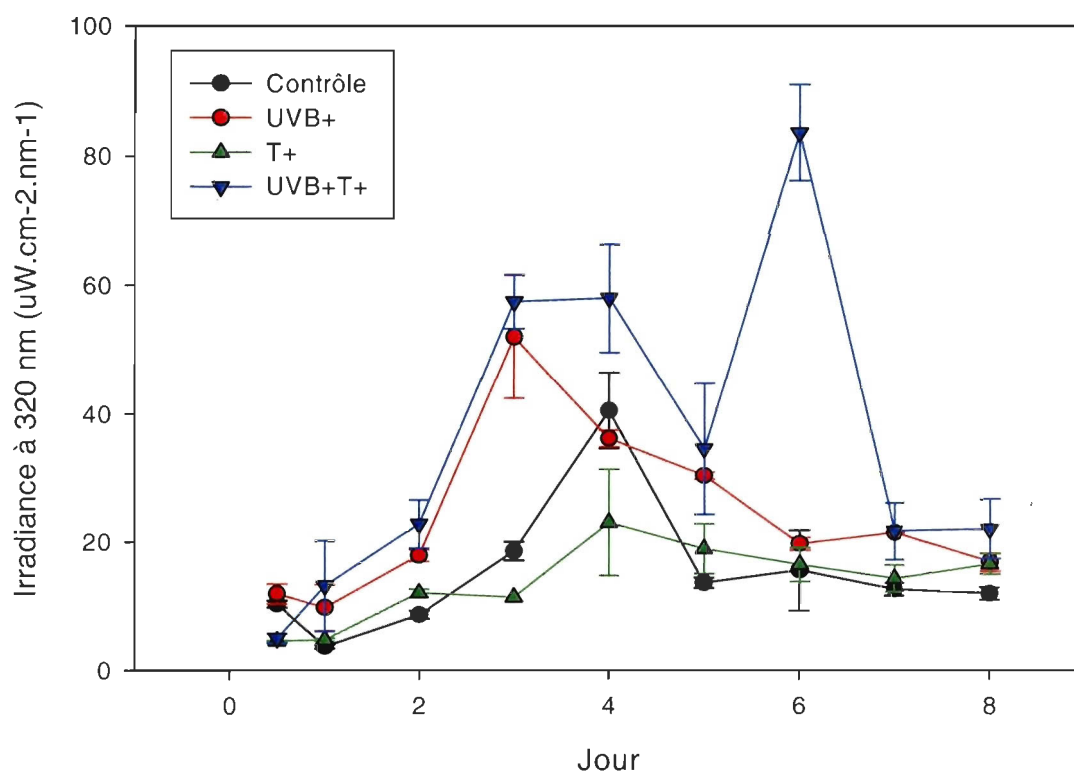


Figure A2.2 : Irradiance moyenne à 320 nm en surface pour les trois traitements et le contrôle en fonction du temps. Ces valeurs ont été mesurées à 12h après allumage des tubes à l'aide du PUV.

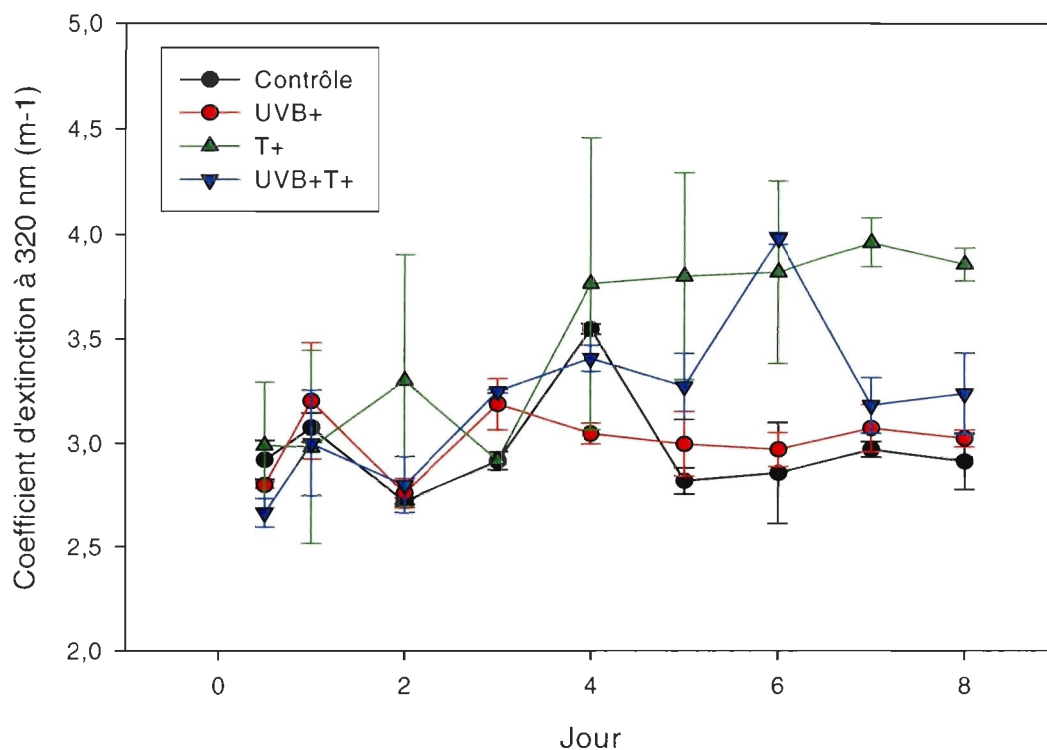


Figure A2.3 : Coefficients d'extinctions moyens à 320 nm pour les trois traitements et le contrôle en fonction du temps (Gracieuseté de G. Ferreyra).

La température de l'eau des mésocosmes est demeurée constante tout au long de l'expérience (figure A2.4), soit à $12 \pm 0,3$ °C pour les quatre mésocosmes à température normale et $15 \pm 0,2$ °C pour les quatre mésocosmes à température augmentée.

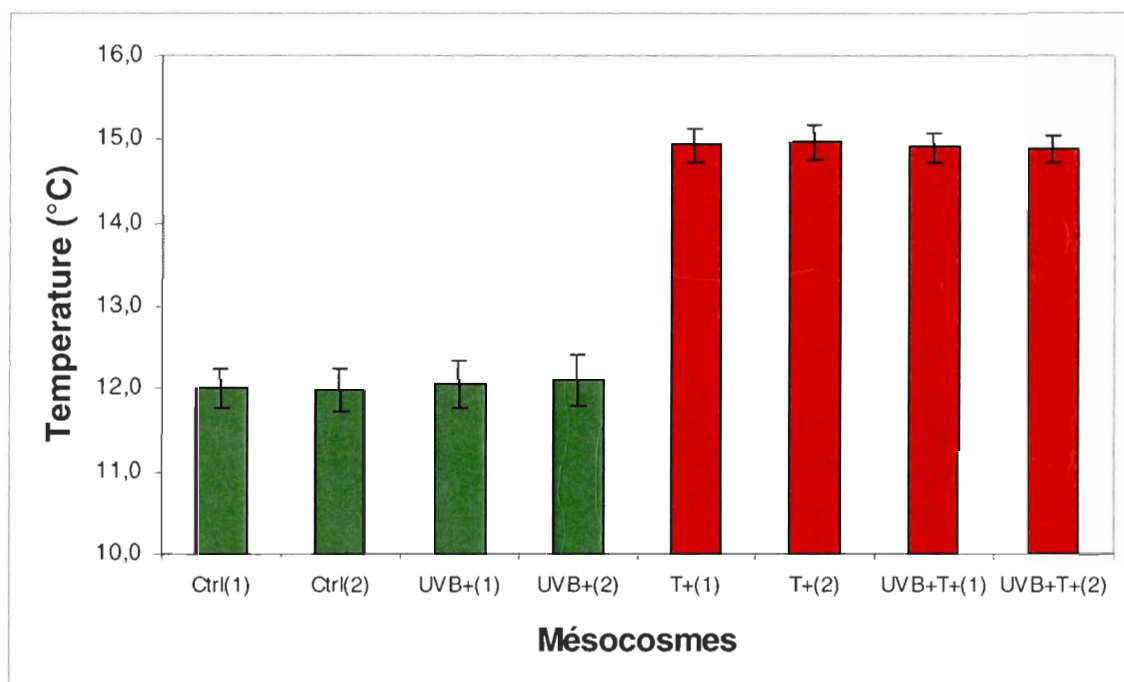


Figure A2.4 : Températures moyennes et écart-types de l'eau des huit (8) mésocosmes durant l'expérience. Les températures ont été notées à chaque heure sur la totalité de la période de l'expérience.